



Carla Sofia Letras Vagante

Licenciada em Engenharia Biológica e Alimentar

Efeitos do consumo de vinho na saúde humana: Aspectos positivos e negativos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientadora: Professora Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte,
Professora Auxiliar, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutor(a) Benilde Simões Mendes

Arguente: Prof. Doutor(a) Maria Margarida Boavida Pontes Gonçalves

Vogal: Prof. Doutor(a) Maria Paula Amaro de Castilho Duarte



**FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**

Setembro 2012



Carla Sofia Letras Vagante

Licenciada em Engenharia Biológica e Alimentar

Efeitos do consumo de vinho na saúde humana: Aspectos positivos e negativos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientadora: Professora Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte,
Professora Auxiliar, FCT/UNL



**FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**

Setembro 2012

Copyright – Carla Sofia Letras Vagante, UNL, FCT

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Como em tudo na vida, este trabalho não poderia ser realizado sem a ajuda de amigos e familiares. Quero então agradecer em primeiro lugar aos meus pais, que me proporcionaram a oportunidade de frequentar o curso e poder alcançar o objectivo de o finalizar.

Aos meus amigos e namorado, e em especial à Cátia Duarte e à Catarina Rodrigues, que ao longo deste percurso me auxiliaram de diversas formas.

Também gostaria de agradecer pela ajuda, compreensão e cooperação aos meus superiores e colegas de trabalho, e especialmente à Professora Paula Duarte pela sua disponibilidade, pela sua orientação e pelos seus conselhos na realização deste trabalho de final de curso.

Obrigado a todos!

RESUMO

O vinho é uma bebida de excelência tanto pelas suas características sensoriais distintas, como pelos efeitos benéficos que pode exercer na saúde de quem o consome regularmente e com moderação. Em Portugal, o vinho tem um consumo elevado sendo um dos produtos alimentares com maior produção.

O conceito do efeito benéfico do vinho já provém da antiguidade. No entanto, este reconhecimento somente foi alcançado após um estudo o “paradoxo francês”, no qual se demonstrou que em alguns países com elevado consumo de gorduras saturadas, existia uma menor incidência de doenças cardiovasculares, facto atribuído ao consumo regular de vinho. Desde então inúmeros estudos têm sido realizados com o intuito de comprovar os efeitos na saúde e os constituintes por eles responsáveis.

Tem-se verificado que o vinho tinto possui um efeito benéfico mais acentuado que o branco, e os polifenóis, destacando-se o resveratrol e os flavonóides, têm sido os compostos mais associados a estes efeitos. Os efeitos benéficos são dependentes da biodisponibilidade destes componentes, que possui diferenças devido às diversas estruturas químicas apresentadas.

Foi objectivo deste trabalho, efectuar uma revisão bibliográfica sobre os potenciais efeitos positivos e negativos para a saúde associados ao consumo de vinho. Muitos destes efeitos resultam da capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antibacteriana do vinho. O consumo regular desta bebida parece exercer, entre outros, efeitos anticancerígenos, neuroprotectores e cardioprotectores.

Palavras-chave: vinho tinto, compostos fenólicos, actividade antioxidante, efeito cardioprotector, efeito neuroprotector, efeito anticancerígeno

ABSTRACT

Wine is a beverage of excellence both for its distinct sensory characteristics and for the beneficial effects that can have on the health of those who consume it regularly and in moderation. In Portugal, wine has a high consumption being one of the most important food cultures.

The recognition of wine's potential beneficial health effects was achieved after studying the "French paradox" in which it was shown that in some countries with a high consumption of saturated fats, there was a lower incidence of cardiovascular disease, a fact assigned to regular consumption of wine. Since then, numerous studies have been conducted in order to verify the beneficial health effects and to identify the constituents responsible for them. It has been found that red wine has a more effective beneficial health effect than white wine, and polyphenols, especially resveratrol and flavonoids, are the major constituents associated with those effects. In this work the potential positive and negative effects on health associated with the consumption of wine were reviewed. Many of these effects seem to result from the antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities of wine polyphenols. Regular consumption of this drink seems to have, among others, anticancer, neuroprotective and cardioprotective effects.

Key-words: red wine, phenolic compounds, antioxidant activity, cardioprotective effect, neuroprotective effect, anticancer effect

ÍNDICE DE MATÉRIAS

Introdução.....	1
1. Composição química do vinho	8
1.2. Álcoois	8
1.3. Glúcidos.....	9
1.4. Ácidos orgânicos	11
1.5. Extracto seco e matérias minerais	12
1.6. Substâncias azotadas	15
1.7. Vitaminas.....	17
1.8. Compostos fenólicos	18
1.9. Outros compostos	26
1.10. Conservantes adicionados durante a produção do vinho.....	27
2. Efeitos do vinho na Saúde.....	29
2.1. Ingestão e Biodisponibilidade.....	31
2.1.1 Ingestão e biodisponibilidade dos polifenóis.....	33
2.2. Efeitos positivos do vinho e dos seus constituintes	36
2.2.1. Actividade antioxidante e anti-inflamatória.....	36
2.2.2. Actividade cardioprotectora e protecção da aterosclerose	40
2.2.3. Actividade antimicrobiana	45
2.2.4. Actividade anticancerígena	47
2.2.5. Actividade neuroprotectora	49
2.2.6. Actividade protectora renal.....	50
2.2.7. Actividade noutras patologias	52
2.3. Efeitos negativos do vinho e dos seus constituintes.....	54
2.3.1. Etanol e outros álcoois	54
2.3.2. Compostos fenólicos	58
2.3.3. Anidrido sulfuroso.....	60
2.3.4. Aminas biogénicas	60

2.3.5. Metais pesados contaminantes do vinho	61
Conclusão.....	62
Referências Bibliográficas	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Regiões vitivinícolas em Portugal	5
Figura 2 - Produção nacional de vinho por cor, na campanha de 2009/2010	5
Figura 3 - Produção de vinho nos países da União Europeia na campanha de 2010/11	6
Figura 4 - Capitação do consumo de vinho no mundo (Litros <i>per capita</i>) na campanha de 2004/2005.....	7
Figura 1.1 - Principais classes de compostos fenólicos	18
Figura 1.2 - Estrutura geral dos ácidos fenólicos: (A) Estrutura geral dos ácidos hidroxibenzóicos e (B) Estrutura geral dos ácidos hidroxicinâmicos	20
Figura 1.3 - Estrutura química do resveratrol	20
Figura 1.4 - Estrutura básica dos flavonóides	21
Figura 1.5 - Estrutura básica de alguns tipos de flavonóides	22
Figura 1.6 - Estrutura química de diferentes flavonóis	22
Figura 1.7 - Estrutura química básica e principais antocianidinas.....	23
Figura 1.8 - Estrutura química das catequinas e galocatequinas.....	24
Figura 1.9 - Estrutura química dos taninos hidrolisáveis.....	25
Figura 1.10 - Estrutura química dos taninos condensados	26
Figura 2.1 - Curva-padrão relativa aos riscos adversos de desenvolver uma determinada doença e a quantidade de álcool ingerida por dia, considerando a população controlo com risco de 1.	31
Figura 2.2 - Representação esquemática geral do destino dos polifenóis <i>in vivo</i>	34
Figura 2.3 - Efeito do resveratrol na protecção das lesões oxidativas em proteínas para as diferentes amostras: controlo, incubação com t-BHP, e com concentrações diferentes de resveratrol. (A) Concentração de AOPPs expressa em cloramina-T ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) (B) Concentração de PCO expressa em nmol.L^{-1} (C) Concentração dos grupos -SH expressa em $\mu\text{mol.L}^{-1}$	39
Figura 2.4 - Percentagem de células apoptóticas no controlo (sem peroxinitrito e sem resveratrol), em células tratadas apenas com peroxinitrito (ONOO-) e pré-incubadas com diferentes concentrações de resveratrol antes de serem tratadas com o peroxinitrito	45
Figura 2.5 - Vias de biotransformação do etanol a acetaldeído	56

ÍNDICE DE TABELA

Tabela 1 - Dados relativos aos principais países de exportação em Portugal .	6
Tabela 1.1 - Concentração de alguns polióis no vinho.	9
Tabela 1.2 - Limite de açúcares permitidos para as diferentes classes de vinhos	10
Tabela 1.3 - Aminas biogénicas mais comuns nos vinhos e respectivo aminoácido precursor.....	16
Tabela 2.1 - Parâmetros da função renal e da excreção de peróxidos urinários nos grupos de ratos controlo, tratados com extracto de vinho (Vitis) tratados com tacrolimus (FK) e tratados com Tacrolimus e extracto de vinho (FK+Vitis)	51
Tabela 2.2 - Factores de inibição (Fi) da actividade da tripsina e concentração fenólica total para diferentes tipos de vinho comercial.....	53

SIMBOLOGIA E NOTAÇÕES

ADH - Álcool desidrogenase

ALDH - Aldeído desidrogenase

AOPPs - Produtos avançados de oxidação proteica

AVC - Acidente vascular cerebral

COX - Ciclooxigenase

CYP2E1 - Citocromo P450 2E1

DAO – Oxidase da diamina

DNA - Ácido desoxirribonucleico

eNOS - Sintases endoteliais do óxido nítrico

HDL - Lipoproteínas de alta densidade

LDL - Lipoproteínas de baixa densidade

MAO - Oxidase da monoamina

MONICA - Monitoring System for Cardiovascular Disease

NAD⁺ - Nicotinamida adenina dinucleotídeo na forma oxidada

NADH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo na forma reduzida

OIV - Organização Internacional da Vinha e do Vinho

OMS - Organização Mundial da Saúde

PAOXI - Índice fenol-antioxidante

PCO - Proteínas carboniladas do plasma

ROS - Espécies reactivas de oxigénio

SNS - Sistema nervoso central

INTRODUÇÃO

O vinho é o produto obtido exclusivamente pela fermentação alcoólica, total ou parcial, de uvas frescas, esmagadas, ou não, ou de mosto de uvas, e o seu teor alcoólico não deve ser inferior a 8,5% de volume, excepto em vinhos verdes (Peynaud, 1993; Silva & Salvini, 2009). Também pode ser definido como uma bebida resultante da fermentação alcoólica do mosto de uva, contendo geralmente 10 a 15 % de álcool, podendo alcançar até cerca de 20% no caso dos chamados vinhos fortificados (vinho do Porto, Xerez e outros) (Neto & Cosenza, 1994). Na sua definição bioquímica é caracterizado como uma bebida proveniente da fermentação alcoólica dos açúcares do sumo de uva pelas leveduras e, em alguns casos pelas bactérias lácticas (Moraes & Locatelli, 2010).

A uva, que tem uma longa história de cultivo e utilização, é uma das mais importantes culturas de frutas comerciais em todo o mundo. Os primeiros registos de vinhas cultivadas na História da humanidade datam de, pelo menos 7 000 a 5 000 anos antes de Cristo, porém os registos de vinhos datam dos séculos XIV e XIII a.C., com os fenícios. Deste modo, o vinho tem sido citado constantemente ao longo da história, desde a antiguidade clássica até ao pós-moderno, no qual assume conotações diferentes para os povos estando intimamente ligadas à história e cultura das civilizações. Em alguns países, especialmente na França e Itália, onde ocupa um lugar de destaque à mesa, o vinho chega mesmo a ser considerado como património (Valduga, 2008).

Existem mais de 70 espécies de uvas (*Vitis L.*) e um vasto conjunto de cultivares de uvas em todo o mundo, todavia o vinho é produzido principalmente a partir de uva proveniente da videira pertencente à espécie *Vitis vinifera* oriunda da Europa, e embora existam outras espécies, esta origina os melhores vinhos e é a mais adequada para a sua elaboração. Esta espécie possui um grande número de variedades, denominadas castas, que são divididas em brancas e tintas, constituindo a principal diferença entre elas a existência de taninos, presentes, sobretudo, nas películas das uvas tintas. Estes pigmentos são responsáveis pela cor e adstringência do vinho (Panigas, 1994; Silva & Salvini, 2009; Zho *et al.*, 2012).

Portugal possui uma vasta diversidade de cultivares ou castas autóctones da espécie *Vitis vinifera*, das quais mais de 300 estão oficialmente reconhecidas. As mais predominantes e representativas da viticultura portuguesa são uma pequena parte, nomeadamente o Alvarinho, Antão Vaz, Arinto, Fernão Pires nas cultivares brancas e Baga, Castelão, Tinta Barroca, Touriga Franca, Touriga Nacional, Trincadeira e Tinto Cão, nas cultivares tintas. Existem outras cultivares, de que é exemplo a casta Aragonez, que embora não sendo de origem nacional, têm vindo a ser plantadas em diversas regiões de Portugal (Veloso *et al.*, 2010; <http://www.ivv.min-agricultura.pt>, acedido em Agosto de 2012).

Algumas cultivares são típicas de certas regiões vitivinícolas, embora possam existir noutras regiões, como é o caso da uva Alvarinho que surge na regiões onde se produz vinhos verdes ou a uva Antão Vaz, umas das mais importantes no Alentejo. A uva Fernão Pires é umas das

mais cultivadas em Portugal predominantemente nas zonas do Centro e Sul. Nas uvas tintas, a Castelão, também denominada Periquita, é uma das castas tintas mais cultivadas no sul do país e particularmente na zona da Península de Setúbal, a Trincadeira é uma casta especialmente cultivada nas regiões do Alentejo e do Douro, enquanto a Tinto Cão tem características ótimas para o vinho do Porto (<http://www.infovini.com>, acedido em Agosto de 2012).

A produção de uvas e o fabrico de vinho foram dotados no passado com técnicas que se mantêm até aos dias de hoje. No entanto, o progresso, a modernização e a globalização dos mercados permitiram aperfeiçoar, não só, essas técnicas de elaboração, mas também, métodos analíticos utilizados. As aplicações constantes dos avanços da química à enologia possibilitaram a caracterização dos vinhos e o estabelecimento dos seus perfis de autenticidade, fundamentar as diferenças encontradas na prova, valorizar as regiões demarcadas na produção e melhorar a qualidade do vinho (Serra *et al.*, 2004).

Para elaborar um bom vinho, é essencial que as uvas estejam em boas condições e perfeitamente maduras para o tipo de vinho que se pretende. Para além disto, a qualidade do vinho depende ainda do tipo de castas utilizadas, dos processos e técnicas de produção e da conservação durante e após a sua elaboração. O conjunto de operações unitárias para a transformação de uvas maduras em vinho é denominado de vinificação. De uma forma generalizada após a colheita da uva, a primeira etapa aquando da chegada à adega é a remoção dos engaços que constituem e servem de suporte às uvas. As etapas seguintes diferem consoante o tipo de vinho que se pretende produzir, vinho tinto, vinho rosado ou rosé e vinho branco (Panigas, 1994).

Na produção de vinho branco são utilizadas maioritariamente uvas de castas brancas, sendo-lhes removidas as películas e grainhas através de uma prensagem, ficando somente a polpa que origina o mosto e que será utilizado para a produção do vinho. Porém, há alguns vinhos brancos que são elaborados a partir do processo de maceração pelicular, ou seja, em que as películas das uvas se mantêm em contacto com o mosto antes da fermentação para uma maior concentração aromática. Se forem utilizadas uvas tintas para a elaboração deste vinho, a maceração não pode ser realizada, caso contrário resultaria num vinho com uma tonalidade de vinho tinto (Panigas, 1994; <http://www.infovini.com>, acedido em Agosto de 2012).

O vinho rosé é elaborado a partir de uvas tintas e através de um processo especial de fermentação. Após um curto período de tempo de maceração removem-se as películas das uvas, seguindo-se então um processo de fermentação semelhante ao do vinho branco. Em Portugal é permitido fazer rosé a partir da mistura de vinhos brancos e tintos (Panigas, 1994; <http://www.infovini.com>, acedido em Agosto de 2012).

No vinho tinto apenas podem ser utilizadas uvas tintas, pois a cor provém de pigmentos contidos nas películas destas, sendo realizado o desengaço e esmagamento das uvas mas sem triturar as películas e grainhas. É usualmente efectuada uma maceração mais prolongada em simultâneo com a fermentação, de forma a obter mais cor e mais componentes da película no vinho. Após a vinificação do vinho tinto, este pode ser logo engarrafado, designando-se de

vinho jovem, ou pode ser envelhecido em barricas, geralmente de carvalho, de modo a adquirir maior complexidade no sabor e na sua composição química. Isto acontece pois o carvalho, sendo uma planta contém, tal como as demais, compostos específicos como os taninos (Panigas, 1994; <http://www.infovini.com>, acedido em Agosto de 2012).

Podem ainda ser produzidos vinhos em que durante a fermentação são aplicadas outras técnicas e etapas específicas originando assim diferentes tipos desta bebida. Exemplos destes outros tipos de vinho são os vinhos generosos e os vinhos espumantes. Os vinhos generosos resultam da adição de álcool (álcool puro, aguardente ou brandy) durante o processo de fermentação, suspendendo-se, deste modo, o processo de transformação dos açúcares em álcool, ficando os vinhos mais alcoólicos e adocicados. Dentro dos vinhos generosos podem destacar-se o vinho do Porto, o Moscatel, o vinho da Madeira e o Jerez (Xerez ou Sherry). Os vinhos espumantes distinguem-se pela presença de dióxido de carbono proveniente da fermentação secundária, mais usualmente realizada na garrafa, mas que também se pode realizar em sistema contínuo ou em cubas de aço inoxidável (método *charmat*) (Panigas, 1994; <http://www.infovini.com>, acedido em Agosto de 2012).

Nos países produtores de vinho são definidas categorias, que são identificadas pelo seu local de origem, pelas castas utilizadas e pela legislação vinícola específica que pode diferir de país para país. Todavia, existe um organismo intergovernamental de carácter técnico e científico, denominado de Organismo Internacional da Vinha e do Vinho (OIV), que regula as normas internacionais de produção do vinho.

Em Portugal, o vinho pode beneficiar de uma Denominação de Origem quando se considera que as suas características estão intimamente associados a uma determinada região. Estes vinhos são originários e produzidos nessa região possuindo qualidades ou características que se devem essencial ou exclusivamente ao meio geográfico incluindo os factores naturais e humanos. Estes vinhos são submetidos a um elevado controlo em todas as etapas de elaboração e são então classificados do seguinte modo (<http://www.infovini.com>, acedido em Agosto de 2012):

- DOP (Denominação de Origem Protegida) designação comunitária adoptada para designar os vinhos com Denominação de Origem e que os integra num registo comunitário único e lhes confere protecção de acordo com a regulamentação;
- DOC (Denominação de Origem Controlada) designação atribuída a vinhos provenientes de regiões produtoras mais antigas e, por isso, sujeitos a legislação própria;
- IG (Indicação Geográfica) designação atribuída a vinhos produzidos numa região específica e elaborados com pelo menos 85% de uvas provenientes dessa região e de castas típicas desta;
- IGP (Indicação Geográfica Protegida) designação atribuída a vinhos com indicação geográfica e que os integra num registo comunitário único e conferindo-lhes protecção regulamentar;
- Vinho Regionais designação que consiste numa menção tradicional para vinhos que possuem Indicação Geográfica Protegida, mas que não respeitam todas as regras de produção

ou elaboração destes, nomeadamente no que diz respeito ao tipo de castas, ao tipo de garrafas ou à duração dos tempos de estágio. Para a denominação destes vinhos é mencionada a região de onde provêm.

A atribuição de Denominação de Origem a um vinho implica que todas as suas fases de produção, desde a vinha até ao consumidor, sejam sujeitas a um controlo rigoroso. As castas utilizadas, os métodos de vinificação e as características organolépticas são apenas alguns dos elementos cujo controlo permite a atribuição desse direito, cabendo às Comissões Vitivinícolas Regionais proceder a esse controlo de forma a garantir a genuinidade e qualidade dentro das suas regiões demarcadas (Lei nº 8/85, de 4 de Junho).

O vinho é um produto alimentar muito reconhecido, pelo que em determinados países, como é o caso de Portugal, a sua produção pode constituir uma mais-valia para a sustentabilidade económica. A história da viticultura nacional, à semelhança de outros países vinícolas europeus, tem observado grandes oscilações como reacção dos mercados. Nos últimos dez anos a produção vinícola nacional, oscilou entre os 5 688 560 hL, na campanha de 2008/2009, e os 7 789 427 hL, na campanha de 2001/2002, tendo, na campanha de 2010/2011, atingido um valor de 7 132 706 hL (IVV, 2012).

Das 13 regiões vitivinícolas que actualmente existem no nosso país (Figura 1.1), as regiões do Douro, Lisboa e Alentejo são as que, de um modo geral, apresentam valores mais elevados de produção, representando no ano de 2009/2010, cerca de 23%, 17% e 17% respectivamente. Pelo contrário, as regiões do Algarve e dos Açores são as que menos contribuem para a produção total nacional, tendo no ano de 2009/2010, representado, respectivamente, 0,3% e 0,1% da produção anual (IVV, 2011). No que diz respeito à cor, Portugal apresenta uma produção de vinhos tinto/rosé muito superior à produção de vinhos brancos (Figura 1.2).

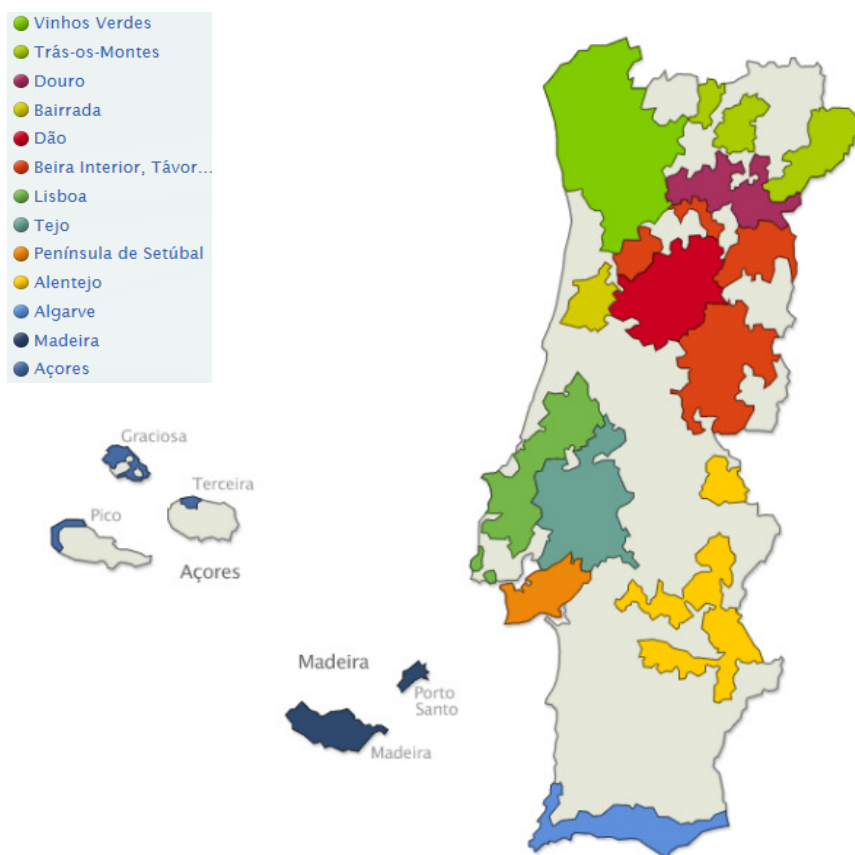


Figura 1 - Regiões vitivinícolas em Portugal (<http://www.infovini.com>, acedido em Agosto de 2012).

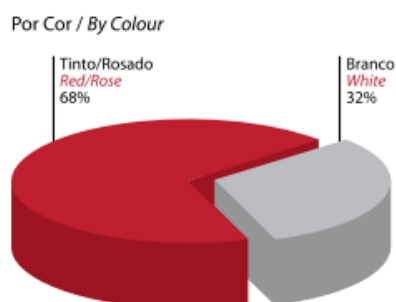


Figura 2 - Produção nacional de vinho por cor, na campanha de 2009/2010 (IVV, 2011).

A nível da União Europeia, Portugal representa o quarto maior produtor de vinho, a seguir à Itália, que se encontra no topo, à França e à Espanha, encontrando-se, nos últimos lugares desta lista, países como a Eslovénia e a República Checa (Figura 1.3).

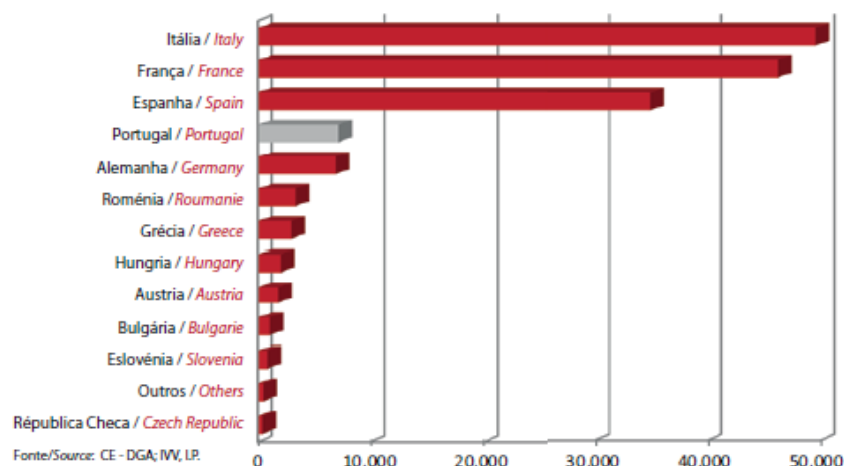


Figura 3 - Produção de vinho nos países da União Europeia na campanha de 2010/11 (IVV, 2012).

A produção de vinho em Portugal é excedentária face ao consumo, destinando-se uma parte do vinho à exportação para diversos países, tendo-se verificado, entre os anos de 2000 e 2011, um aumento nas exportações superior a 50%. Os principais países de exportação são a Angola, França, Reino Unido, Estados Unidos da América, Brasil e Canadá (Tabela 1.1) (IVV, 2012).

Tabela 1 - Dados relativos aos principais países de exportação em Portugal (IVV, 2012).

País	Volume (hL)
Angola	490 694
França	245 350
Reino Unido	126 570
E. U. A.	92 811
Brasil	74 044
Canadá	56 653

Portugal ocupa, igualmente, uma importante posição no que concerne ao consumo de vinho a nível mundial. Os dados fornecidos pelo Instituto da Vinha e do Vinho, correspondentes à campanha 2004/2005 (Figura 1.4), revelam que os maiores consumidores são o Luxemburgo e a França, com aproximadamente 60L e 55L *per capita* respectivamente, seguidos da Itália e de Portugal, com aproximadamente 50L *per capita* (<http://www.ivv.min-agricultura.pt>, acedido em Agosto de 2012). Quanto ao perfil do consumidor português, este é predominantemente masculino, observando-se uma sobre-representação das classes sociais Alta e Média Alta, e das faixas etárias dos 35 aos 54 anos (Barros, 2010)

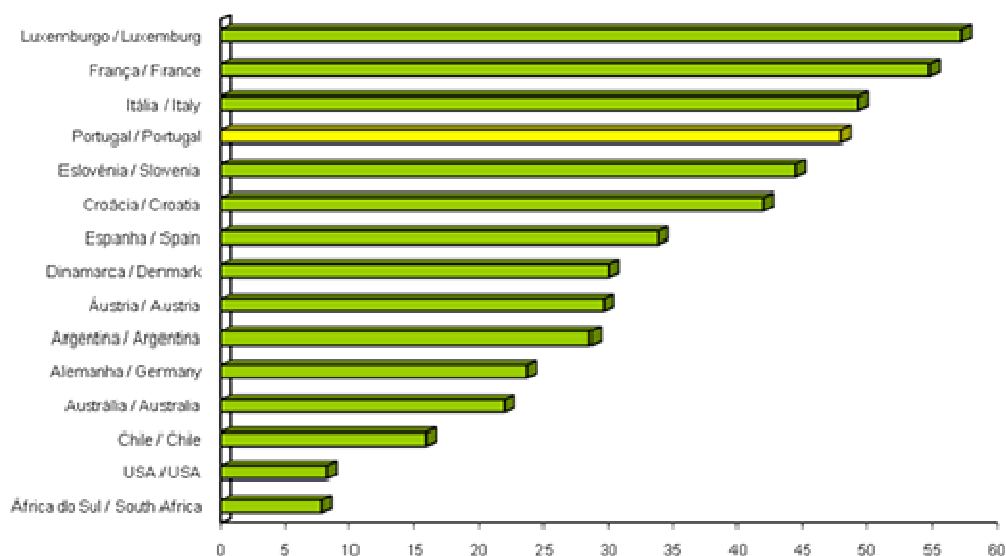


Figura 4 - Capitação do consumo de vinho no mundo (Litros *per capita*) na campanha de 2004/2005 (<http://www.ivv.min-agricultura.pt>, acedido em Agosto de 2012).

O elevado consumo de vinho que se verifica em Portugal faz com que o estudo dos efeitos que esta bebida apresenta sobre a saúde humana adquira uma elevada importância. Os efeitos prejudiciais para a saúde associados ao consumo excessivo de vinho são desde há muito conhecidos. No entanto, nos últimos anos têm vindo a ser publicados diversos estudos sobre eventuais efeitos benéficos para a saúde humana associados ao consumo, em doses regulares e moderadas, desta bebida. Estes trabalhos têm sido relevantes para demonstrar as vantagens que o consumo ponderado de vinho pode ter, podendo, deste modo, constituir um critério para conquistar o mercado e aumentar a procura interna e externa deste produto alimentar. Neste contexto, foi objectivo deste trabalho, efectuar uma revisão bibliográfica sobre os potenciais efeitos positivos e negativos para a saúde humana que têm vindo a ser descritos como estando associados ao consumo de vinho, tentando, sempre que possível, estabelecer uma relação entre os efeitos fisiológicos verificados e a composição química desta bebida.

1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO VINHO

O vinho é composto por diversas substâncias químicas que possuem características próprias, de concentrações variadas e que se combinam entre si, originando um produto alimentar de elevada complexidade. Estas substâncias químicas podem ter diversas origens podendo ser constituintes das próprias uvas, ser metabolitos produzidos pelos microrganismos durante a fermentação ou ainda serem constituintes da madeira utilizada na construção das barricas, nas quais o vinho é armazenado durante o seu envelhecimento.

A composição química exacta das uvas depende da casta utilizada e de diversos factores agronómicos e ambientais que incluem o tipo de solo (textura, pH, profundidade, matéria orgânica, capacidade de drenagem, etc.), a topografia do local (exposição solar, exposição ao vento, altitude, etc.) e as condições atmosféricas (temperatura, pluviosidade, radiação solar, etc.) (Jackson, 2000). Muitos destes factores não são estáticos e, por isso, a composição, e a qualidade de um mesmo vinho, pode ser diferente de ano para ano.

Apesar de todos os factores de variabilidade descritos, nos últimos anos, em grande parte devido aos avanços dos equipamentos e das técnicas da química analítica, muitos dos constituintes químicos do vinho têm vindo a ser identificados.

1.1. Água

A água é o constituinte maioritário e, por isso, o principal do vinho, representando 80 a 85% do volume total (Penna & Hecktheuer, 2004). O conteúdo em água das uvas e do vinho raramente é discutido porque a sua presença é dada como certa. No entanto, como constituinte químico predominante da uva e do vinho, a água desempenha um papel fundamental ao ser um componente essencial de muitas das reacções químicas envolvidas no crescimento das uvas, na fermentação do sumo e no envelhecimento do vinho (Jackson, 2000).

1.2. Álcoois

O etanol ou álcool etílico é, depois da água, o componente quantitativamente mais importante do vinho. A riqueza do vinho é expressa pelo grau alcoólico que representa a percentagem, em volume, de álcool no vinho, que provém essencialmente da fermentação alcoólica dos açúcares do mosto (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Hipólito-Reis, 2008).

O etanol desempenha um papel fundamental na estabilidade e nas propriedades sensoriais do vinho. Durante a fermentação, a produção deste álcool inibe o desenvolvimento de microrganismos que poderiam levar à deterioração do vinho. Mais ainda, o etanol contribui directamente para o aroma e sabor do vinho e participa em diversas reacções químicas nas quais se vão formando compostos voláteis importantes para o aroma desta bebida. O etanol é ainda importante para a extracção dos pigmentos que dão cor ao vinho bem como para

solubilizar diversos compostos de aroma que se vão formando durante a fermentação ou o envelhecimento desta bebida (Jackson, 2000).

O metanol também existe em todos os vinhos em quantidades baixas compreendidas entre 60 e 150 mg/L. Este álcool, aparece como resultado da hidrólise enzimática das pectinas durante a vinificação, sendo a sua concentração no vinho dependente da maceração das partes sólidas, em particular das películas. Desta forma o vinho tinto tem maior teor (152 mg/L) do que o vinho rosé (91 mg/L) e sobretudo do que o vinho branco (63 mg/L) (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Dada a toxicidade do metanol a sua concentração nos vinhos é aceitável até 150 mg/L no vinho branco e rosé e 300 mg/L no vinho tinto (Hipólito-Reis, 2008).

No vinho encontram-se ainda álcoois superiores, ou seja, álcoois que possuem mais que dois átomos de carbono e polióis, ou seja álcoois contendo mais do que um grupo hidroxilo na mesma molécula linear ou cíclica. Na sua esmagadora maioria os álcoois superiores são de origem fermentativa e estão presentes nos vinhos em doses globais na ordem de 150 a 550 mg/L. Os principais são o álcool isobutílico (metil-2-propanol-1) e os álcoois amílicos (uma mistura de metil-2-butanol-1 e metil-3-butanol-1). Entre os diversos polióis existentes no vinho (Tabela 1.1) o mais importante é o glicerol proveniente da fermentação alcoólica como produto secundário, podendo ser encontrado em concentrações que ultrapassam os 5 g/L, dependendo das condições da fermentação (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Hipólito-Reis, 2008).

Tabela 1.1- Concentração de alguns polióis no vinho (adaptado de Ribéreau-Gayon et al., 1998).

Polióis	Concentração mínima (mg/L)
2,3-Butanediol	330
Manitol	90
Sorbitol	30
Arabitol	25

1.3. Glúcidos

Os glúcidos ou carboidratos são os precursores de diversos ácidos orgânicos dependendo da via metabólica realizada. Por meio da glicólise aeróbia, a glucose é o precursor do ácido cítrico, ácido málico e ácido succínico. Na via das pentoses, é também o precursor do ácido tartárico e do ácido chiquímico (importante na defesa das plantas). Os açúcares são ainda os precursores de compostos fenólicos, e de aminoácidos de estrutura aromática, tal como a tirosina, fenilalanina e triptofano. Os dois principais açúcares das uvas são a glucose e a frutose, encontrando-se o teor global nestes dois açúcares compreendido entre 150 e 250 g/L, dependendo da espécie, da variedade, do grau de maturação e da saúde do fruto, podendo ser ainda mais elevado em caso de sobrematuração ou podridão das uvas. Durante a fermentação, a glucose e a frutose (açúcares fermentáveis) dão origem ao etanol e a vários outros produtos

secundários, sendo necessário 16,5 a 18,0 g/L de açúcar para produzir um grau (% volume) de etanol (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

A relação de glucose/frutose é próxima de um no mosto mantendo-se constante durante a fermentação, porém no vinho doce, o teor em frutose pode ser duas a quatro vezes mais elevado que o teor em glucose. Isto ocorre porque a glucose é preferencialmente fermentada pela maioria das leveduras. Estas hexoses também se distinguem pela doçura e intervenção no sabor do vinho, se atribuir 1 à doçura da sacarose, a frutose possui 1,73 e a glicose 0,74. Desta forma, para o mesmo teor residual de açúcar, o sabor doce do vinho depende da razão glucose/frutose (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

Para além da glucose e da frutose não fermentadas o vinho contém pequenas quantidades de outros açúcares entre os quais se encontram pentoses, principalmente arabinose e xilose que representam algumas centenas de mg/L, e ainda ribose e ramnose, que estão presentes em concentrações que não excedem as 100 mg/L. Alguns dos dissacáridos presentes mas em quantidades baixas na uva e no vinho são a maltose, a lactose e a rafinose. A sacarose também está presente na uva, sendo a mais importante pois é fermentada após a sua hidrólise em glucose e frutose e por esta razão não existe no vinho naturalmente, apenas se for adicionada após a fermentação (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Moraes & Locatelli, 2010).

De acordo com o Instituto da Vinha e do Vinho os vinhos podem ter diferentes classificações de acordo com o seu teor em açúcares (Tabela 1.2).

Tabela 1.2 - Limite de açúcares permitidos para as diferentes classes de vinhos (IVV, 2012).

Vinho	Limite de açúcares legislado
Seco	4 g/L
Meio seco	4 - 12 g/L
Meio doce	12 - 45 g/L
Doce	≥ 45 g/L

O teor em açúcar dos vinhos está, logicamente, relacionado com a sua doçura. Contudo os açúcares podem originar aldeídos, polióis e ésteres de ácidos gordos e, desta forma, contribuir para o aroma característico dos vinhos. Os açúcares podem, igualmente, estar envolvidos no escurecimento do vinho através da sua participação nas reacções de escurecimento não enzimático também designadas por reacções de Maillard (Jackson, 2000).

Os polissacarídeos como a celulose e a hemicelulose são insolúveis ou pouco solúveis e não são extraídos para o mosto ou se o são acabam por precipitar durante a fermentação. Já as pectinas gomas e mucilagens presentes nas uvas são extraídas para o mosto. Contudo, durante a fermentação, na presença de etanol, formam colóides complexos e tendem a precipitar, sendo, por isso, a sua concentração no vinho negligenciável (Jackson, 2000).

1.4. Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos participam largamente na constituição, estabilidade e na qualidade organoléptica do vinho, em particular do vinho branco. As suas propriedades de conservação também conferem uma melhor estabilidade microbiológica e físico-química. Os principais ácidos provenientes da uva são o ácido tartárico, o málico e o cítrico (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

O ácido tartárico é específico da uva e sendo um ácido relativamente forte confere ao vinho um pH na ordem dos 3,0 a 3,5. No engaço a sua concentração pode atingir 15 g/L. Em mosto de uvas de clima mais frio a sua concentração excede frequentemente 6 g/L, enquanto no mosto proveniente de regiões do Sul, este valor ronda os 2 a 3 g/L. O ácido málico encontra-se em todos os organismos vivos em concentrações variáveis, podendo constituir metade da acidez total das uvas e do vinho. O mosto proveniente de regiões do Norte também contém concentrações superiores, na ordem dos 4 a 6,5 g/L enquanto no mosto da região Sul não excede 1 a 2 g/L. O ácido cítrico é, igualmente, um ácido comum na natureza, muito importante para o ciclo de Krebs e o seu teor no mosto e no vinho é de 0,5 e 1 g/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

Durante a fermentação, são originados outros ácidos orgânicos mas que estão presentes no vinho em pequenas quantidades. O ácido pirúvico possui uma importante função originando diversas substâncias tal como o etanol formado na fermentação alcoólica, embora o seu conteúdo no vinho seja baixo. O ácido láctico, o ácido acético, o ácido fumárico e o ácido succínico são outros ácidos que são formados durante a fermentação (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998, Moraes & Locatelli, 2010).

O ácido acético é o principal ácido volátil presente nos vinhos, e é produzido em pequenas quantidades durante a fermentação. Nas quantidades baixas em que geralmente se encontra nos vinhos (< 300 mg/L), quer este ácido, quer alguns dos seus ésteres, são importantes para o aroma e sabor desta bebida. Quantidades mais elevadas deste ácido traduzem normalmente a existência de contaminação bacteriana (láctica ou acética), e afectam negativamente o sabor e o aroma do vinho. Durante a fermentação as leveduras produzem, igualmente, pequenas quantidades de ácido láctico. No entanto, concentrações elevadas deste ácido no vinho estão associadas à actividade das bactérias, em particular das bactérias lácticas, que produzem este ácido por descarboxilação do ácido málico, num processo designado como fermentação maloláctica (Jackson, 2000). Os ácidos gordos de longa cadeia presentes no vinho são insaturados, pertencem à família dos esteróis e são activadores da fermentação sobretudo em anaerobiose. Os mais importantes são o ácido oleico e o ácido linoleico (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

Apesar da acidez do vinho resultar, maioritariamente, do seu teor em ácidos orgânicos, em especial dos ácidos tartárico, málico e cítrico, podem, igualmente, ser detectados nesta bebida ácidos inorgânicos dos quais os ácidos carbónico e sulfuroso, que se encontram sob a forma de gases dissolvidos, constituem os principais exemplos (Jackson, 2000).

A acidez contribui de forma directa e indirecta para a qualidade do vinho, estando relacionada com o sabor ácido desta bebida e afectando vários aspectos da química do vinho, muitos destes directamente relacionados com a sua qualidade. Por exemplo, um pH relativamente baixo ajuda a proteger o vinho contra deterioração microbiana. O pH baixo também pode contribuir para acentuar a cor vermelha em vinhos tintos e reduzir a incidência do escurecimento dos compostos fenólicos (Clarke & Bakker, 2004).

1.5. Extracto seco e matérias minerais

O extracto seco total ou sólidos totais é caracterizado pelo conjunto de todas as substâncias constituintes do vinho que não volatilizam, incluindo substâncias orgânicas e inorgânicas não voláteis. O teor de extracto seco total no vinho varia consoante a origem, as técnicas de vinificação aplicadas e as condições analíticas utilizadas para a sua determinação. No vinho tinto o extracto seco ronda os 25 a 30 g/L, no vinho branco o valor é inferior a 25 g/L e no vinho doce depende da riqueza em açúcares (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

A análise quantitativa da matéria mineral pode ser determinada através da obtenção de cinzas provenientes da incineração do resíduo de vinho evaporado. As cinzas são normalmente brancas ou acinzentadas e representam cerca de 1,5 a 3 g/L de vinho. Se apresentarem uma coloração verde ou vermelha indica um elevado teor de manganésio e se apresentarem uma coloração amarela possuem um teor de ferro elevado (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Catarino *et al.*, 2008). A composição mineral do vinho reflecte a sua origem e percurso particulares, contribuindo para as características sensoriais, com influência na cor e limpidez, sendo deste modo identificadora para o vinho. Os elementos minerais são provenientes principalmente da absorção radicular, verificando-se um constante enriquecimento durante a formação e maturação do bago.

Os elementos maioritários, que se encontram normalmente em concentrações de 10 mg/L até 1 g/L, incluem o potássio, o cálcio, o sódio e o magnésio, o silício (sob a forma de ácido silícico), o fósforo (presente essencialmente sob a forma mineral mas também orgânica), o enxofre (sob a forma de sulfatos, sulfitos e outras espécies), e cloro (sob a forma de cloretos). A um nível de concentração inferior, geralmente entre 0,1 mg/L e 10 mg/L, podem destacar-se o boro (sob a forma de ácido bórico), alumínio, manganésio, ferro, cobre, zinco, estrôncio e o molibdénio, elementos minoritários, e na sua grande maioria oligoelementos (Catarino, 2006; Catarino *et al.*, 2008). Muitos destes elementos metálicos desempenham importantes funções fisiológicas, no entanto, de um modo geral, quando a sua dose ultrapassa determinados valores podem desencadear fenómenos de toxicidade ou contribuir para a deterioração do vinho. Por exemplo, níveis muito elevados de cobre e de ferro podem desencadear no vinho a ocorrência de processos oxidativos que alteram as suas características organolépticas (Jackson, 2000).

Quanto aos catiões presentes no vinho, tal como em todos os vegetais, o potássio é dominante, sendo o seu teor de 0,5 a 2 g/L com uma média de 1 g/L e no vinho tinto a

concentração é mais elevada do que no vinho branco. O teor de cálcio presente é de algumas dezenas de mg/L, sendo um pouco mais elevado no vinho branco em relação ao vinho tinto. O sódio no vinho é pouco abundante e a sua concentração situa-se entre 10 e 40 mg/L, e a concentração de magnésio é mais elevada sendo o mínimo de 60 mg/L, atingindo valores de 150 mg/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

Os catiões e aniões minerais estão naturalmente presentes no mosto e no vinho em teores não tóxicos. No entanto, ao longo do processo de produção das uvas e do vinho existem diversos factores que podem levar a um aumento dos compostos minerais. Entre esses factores encontram-se a contaminação ambiental nos locais de cultivo, as práticas culturais aplicadas, muito particularmente a utilização de fertilizantes e pesticidas, os aditivos e auxiliares tecnológicos utilizados na produção, estabilização e conservação do vinho. A implementação de determinadas tecnologias, como a maceração pelicular na produção de vinho branco e maceração prolongada durante a vinificação do vinho tinto, também promovem a dissolução de minerais e compostos orgânicos presentes, sobretudo nas partes sólidas da uva, onde estão localizados maioritariamente, contribuindo para um aumento do seu teor no vinho. Pelo contrário, durante a produção do vinho pode ocorrer uma eliminação parcial destes metais, por precipitação sob a forma de sais orgânicos e/ou sulfuretos, e por absorção e adsorção por leveduras e bactérias (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Catarino, 2006; Catarino *et al.*, 2008). Desta forma, a ocorrência dos minerais em concentrações muito elevadas indica, de uma forma geral, a ocorrência de contaminações após a fermentação (Jackson, 2000).

Os elementos minerais presentes no vinho em concentrações muito baixas são classificados como metais contaminantes. Dentro destes elementos encontram-se o cobre, o ferro, o zinco, o manganésio, o crómio, o alumínio, o arsénio, o cádmio, o chumbo e o mercúrio.

A presença de cobre provém da própria constituição da uva, pois é um elemento indispensável para o metabolismo dos vegetais, apresentando o mosto teores de 10 a 20 mg/L embora, devido à precipitação que ocorre durante a fermentação, os teores deste metal no vinho sejam inferiores. O contacto com materiais que contenham cobre durante a conservação do vinho e a utilização de sulfato de cobre, para eliminação de odores indesejáveis, pode levar ao incremento da concentração deste mineral no vinho. A OIV fixa o limite máximo admissível para o cobre nos vinhos em 1mg/L (Catarino *et al.*, 2008).

Grande parte do ferro que aparece no vinho resulta do ferro existente nas uvas, podendo o restante ser veiculado pelo solo que acompanha os bagos, pelos equipamentos e materiais utilizados na vindima e nos processos de vinificação, estabilização e conservação. Os teores deste metal normalmente presentes no vinho rodam valores de 2 a 20 mg/L, e o emprego do aço inoxidável contribuiu para o decréscimo da concentração de ferro (Catarino *et al.*, 2008).

O zinco encontra-se na natureza sob a forma de minerais combinados com enxofre, numa mistura de sulfuretos de zinco e chumbo, sendo um elemento essencial para o desenvolvimento e crescimento das plantas, não sendo significativa a sua acumulação nos solos. Para além da sua presença endógena, a aplicação de alguns fungicidas e a utilização de

produtos enológicos e de materiais à base de ligas metálicas contendo este metal, constituem outras fontes de contaminação. Parte do zinco é eliminada durante as fermentações alcoólica e maloláctica, através da sua precipitação devido à reduzida solubilidade. À semelhança de outros metais, a maceração prolongada origina concentrações de zinco mais elevadas nos vinhos, já que este se localiza preferencialmente nas películas e grainhas das uvas. O seu teor varia entre 0,14 e 4 mg/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998) e o limite máximo admissível no vinho indicado pela OIV é de 5 mg/L (Catarino *et al.*, 2008).

O manganésio ou manganês está presente em todos os vinhos em doses muito baixas (1 a 3 mg/L) e depende da riqueza deste mineral no solo, todavia a vinificação do vinho tinto promove o aumento da sua concentração, pois as grainhas da uva contêm três vezes mais manganésio do que as películas e trinta vezes mais do que a polpa (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). A sua existência também está associada à aplicação de produtos fitossanitários, à conservação em alguns tipos de aço inoxidável e à utilização de bentonite e enzimas pectolíticas (Catarino, 2006; Catarino *et al.*, 2008).

A concentração de crómio no ambiente depende essencialmente de factores antropogénicos. A contaminação dos solos leva à contaminação das uvas e, posteriormente, à contaminação do vinho. No entanto, a dissolução deste composto a partir do aço inoxidável e das garrafas de vidro pode igualmente contribuir para o crómio detectado nesta bebida. A sua toxicidade depende da forma química e a mais frequente no vinho é o Cr(III), a menos tóxica. A sua ingestão por via alimentar não deve exceder os 200 µg por dia e a sua concentração nos vinhos apresenta, de uma forma geral, valores inferiores a 60 µg/L (Catarino, 2006; Catarino *et al.*, 2008).

A presença de alumínio no vinho é de natureza exógena, proveniente de pesticidas que o contenham, partículas do solo, superfícies de alumínio e alguns produtos enológicos sendo a bentonite a principal fonte de contaminação (Catarino, 2006). O seu teor nos vinhos é normalmente inferior a 2 mg/L (Catarino, 2006; Catarino *et al.*, 2008).

O arsénio é um elemento muito tóxico e a sua contaminação no vinho pode ter origem no solo, nos herbicidas e pesticidas aplicados na vinha e também na bentonite. O seu teor ronda os 0,01 a 0,02 mg/L no vinho, sendo a sua dose de toxicidade de 2 mg/kg de peso corporal, e nos vinhos o seu limite é de 0,2 mg/L estabelecido pela OIV (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Os vinhos que provêm de vinhas tratadas com sais de arsénio podem apresentar teores mais elevados. As formas inorgânicas são as mais perigosas e são mais significativas nos mostos, pelo contrário nos vinhos predominam as formas orgânicas, resultado da sua metilação pelas leveduras durante a fermentação alcoólica (Catarino *et al.*, 2008).

O cádmio também é um metal extremamente tóxico e por esta razão é um dos metais pesados presentes no vinho mais investigados. Este metal encontra-se naturalmente associado aos minérios de zinco, sendo absorvido pelas raízes da videira, e sua presença exógena deve-se, essencialmente, à aplicação de fertilizantes e pesticidas, porém no decorrer da fermentação alcoólica pode verificar-se uma acentuada diminuição do teor deste metal (Catarino *et al.*, 2008). A Organização Mundial de Saúde recomenda como limite superior nas bebidas 5 µg/L

(Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998) e a OIV prevê uma diminuição do limite máximo em vigor, 10 µg/L (Catarino *et al.*, 2008).

O chumbo encontra-se maioritariamente nos solos sob a forma de sulfuretos, carbonatos e sulfatos e nos vinhos a sua principal origem advém da poluição atmosférica, em particular, a existência de vinhas próximas de zonas rodoviárias parece contribuir para o aumento deste metal, devido à incorporação deste nos combustíveis (Catarino *et al.*, 2008). Os teores de chumbo nos vinhos provenientes da Europa são de um modo geral superiores aos dos vinhos provenientes da Austrália e dos Estados Unidos da América, resultado das diferenças de utilização do chumbo no sector industrial (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Os níveis de ocorrência no vinho têm sido progressivamente reduzidos, com teores máximos próximos de 60 µg/L, tal como o limite máximo autorizado estabelecido pela OIV que em 1996 se fixou em 200 µg/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998) e, recentemente, foi alterado para 150 µg/L, aplicado a vinhos produzidos a partir de 2007 (Catarino *et al.*, 2008). O decréscimo do teor de chumbo no vinho é resultado da eliminação e controlo das fontes de contaminação, que vão desde a substituição de materiais e equipamentos até à redução significativa da utilização de combustíveis com este metal (Catarino *et al.*, 2008).

O mercúrio é introduzido na cadeia alimentar devido à actividade microbiana que transforma o mercúrio metálico em mercúrio orgânico sob a forma de metilmercúrio. O teor deste metal no vinho é inferior a 5 µg/L verificando-se um acentuado decréscimo no decorrer da fermentação alcoólica (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

1.6. Substâncias azotadas

O azoto total presente no vinho encontra-se sob uma forma mineral e diferentes formas orgânicas, e o seu teor é influenciado pela variedade da uva e pela região produtora. O vinho tinto possui níveis médios de azoto quase duas vezes mais elevados do que o vinho branco, consequência da maceração a uma temperatura elevada, que favorece a dissolução das substâncias azotadas provenientes das películas e grainhas, e da autólise de células das leveduras mortas. As substâncias azotadas podem representar até 20% do extracto seco do vinho (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

O azoto mineral é representado pelos nitratos e pelo ião amónio muito representativo na polpa da uva mas que no mosto representa menos de 10% do azoto total. O conteúdo em amónio está relacionado com o início rápido da fermentação do mosto bem como o seu potencial fermentescível (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

Os aminoácidos, os oligopeptídeos e polipeptídeos, as proteínas, as amidas, as aminas biogénicas, o azoto nucleico representado sob a forma de purinas e pirimidinas e as pirazinas constituem o azoto orgânico. Estas formas de azoto são essenciais para o crescimento e para o metabolismo das uvas e das leveduras mas muito raramente contribuem para as características sensoriais do vinho (Jackson, 2000).

Os aminoácidos predominantes são a alanina, a serina, arginina, prolina e a glutamina. A arginina e a prolina são características das castas, estando presentes em diferentes concentrações consoante as variedades de uva, sendo a primeira referida utilizada pelas leveduras e bactérias lácticas (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Por descarboxilação dos respectivos aminoácidos livres precursores podem formar-se aminas biogénicas existentes numa grande variedade de produtos alimentares, principalmente em alimentos ricos em proteínas, alimentos fermentados e bebidas alcoólicas como o vinho (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Correia *et al.*, 2005; Leitão *et al.*, 2005).

As aminas biogénicas podem encontrar-se na uva e no vinho e são importantes, tanto do ponto de vista tecnológico, como do ponto de vista toxicológico, sendo algumas essenciais no desenvolvimento da uva (Mota *et al.*, 2009). Porém, quando em concentrações elevadas podem constituir um risco para a saúde dos consumidores além de apresentarem um efeito negativo no sabor e aroma do vinho. A sua presença no vinho é de origem microbiana, principalmente devido à fermentação, mas também pode resultar de deficientes condições sanitárias (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Correia *et al.*, 2005). O tempo de armazenamento do vinho não afecta de modo significativo o teor de aminas biogénicas, uma vez que não há crescimento microbiano e a acção das enzimas descarboxilantes pode ser inibida pelas condições de pH (Mota *et al.*, 2009).

Foram identificadas mais de 30 aminas biogénicas no vinho (tabela 1.3), em concentrações variáveis que oscilam entre 1 e 50 mg/L, no entanto não existe um limite definido para estes compostos no vinho, sendo somente estabelecido em alguns países níveis recomendados para a histamina, variando entre 2 mg/L na Alemanha e 10 mg/L na Suíça (Correia *et al.*, 2005; Mota *et al.*, 2009).

Tabela 1.3 - Aminas biogénicas mais comuns nos vinhos e respectivo aminoácido precursor (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Correia *et al.*, 2005; Mota *et al.*, 2009).

Amina biogénica	Aminoácido
Histamina	Histidina
Putrescina	Ornitina
Cadaverina	Lisina
Tiramina	Tirosina
Espermidina	Arginina
Espermina	
Agmatina	
Serotonina	5- Hidroxitriptofano

A espermidina e espermina estão associadas à morfogénese da planta, actuando como reguladores do crescimento e como resposta aos desafios ambientais. Quanto à serotonina e à histamina podem estar associadas com mecanismos de defesa da planta protegendo-as contra predadores (Mota *et al.*, 2009).

Devido à fermentação maloláctica e às diferentes técnicas de vinificação, a concentração de aminas biogénicas no vinho tinto pode ser superior à sua concentração no vinho branco (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Leitão *et al.*, 2005). Leitão e colaboradores (2005) realizaram uma pesquisa de aminas biogénicas num total de 292 vinhos portugueses de diversas regiões, sendo 153 tintos e 139 brancos. Neste estudo foi possível verificar que a maioria dos vinhos portugueses apresenta uma concentração baixa destas aminas (< 8 mg/L), tendo os valores mais elevados sido de 17 mg/L para os vinhos brancos e de 28 mg/L para os vinhos tintos. Nos vinhos brancos a percentagem de amostras com teores inferiores a 2,5 mg/L foi de 39%, enquanto que nos vinhos tintos esta percentagem foi de apenas 13%. Foi ainda possível observar que de todos os vinhos tintos 87% continham putrescina, uma amina alifática, 99% histamina, uma amina heterocíclica, e 96% tiramina, uma amina aromática. Enquanto que em todos os vinhos brancos, a cadaverina estava presente em 73%, a histamina em 99% e a putrescina em 81% das amostras. No entanto, num outro estudo efectuado por Correia e colaboradores (2005), no qual se pesquisou a presença de aminas biogénicas em sete amostras de vinhos nacionais, divididos em vinho tinto, vinho branco e vinho do Porto, concluiu-se que as amostras de vinho tinto eram as que apresentavam menor concentração total destas. O reduzido número de amostras analisadas pode estar na origem desta aparente contradição de resultados.

As proteínas também estão presentes na uva, uma vez que são constituintes com estrutura e funções essenciais para qualquer ser vivo. Consequentemente, as proteínas podem assim aparecer no mosto e no vinho embora em quantidades muito diferentes. No vinho tinto como são precipitadas pelos taninos e estes estão presentes em elevadas concentrações neste vinho, a sua concentração é vestigial, contrariamente no vinhos branco e rosé o seu teor varia até várias centenas de mg/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Na maioria dos vinhos as proteínas solúveis são consideradas indesejáveis uma vez que podem causar a sua turvação, no entanto, nos vinhos espumantes, a presença destas proteínas pode ser desejável uma vez que ajuda a estabilizar a efervescência (Jackson, 2000).

1.7. Vitaminas

No vinho também estão presentes algumas vitaminas como a vitamina C (ácido ascórbico), B₁ (tiamina), B₂ (riboflavina), B₃ (niacina), B₆ (piridoxina), biotina, o ácido pantoténico e o ácido fólico (Panigas, 1994; Penna & Hecktheuer, 2004; Moraes & Locatelli, 2010). No entanto os níveis em que estas vitaminas se encontram são demasiado baixos não tendo, por isso, significado do ponto de vista nutricional (Jackson, 2000).

1.8. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos ou polifenóis são compostos químicos resultantes do metabolismo das plantas, participando no desenvolvimento do fruto e desempenhando uma função protectora contra os fungos, bactérias, vírus e radiação solar. A fenilalanina amonioliase (PAL) é uma das enzimas envolvidas na síntese de compostos fenólicos e a sua actividade aumenta nas plantas submetidas a situações de “stress” hídrico, forte incidência dos raios solares e infecção por fungos como, por exemplo, o *Botrytis Cinérea*. Os compostos fenólicos desempenham, assim, uma função importante na relação das plantas com o ambiente, em particular na defesa contra o ataque de agentes patogénicos (microrganismos e insectos), prevenindo as infecções, além de serem responsáveis pela pigmentação (Souza *et al.*, 2006; Horst & Lajolo, 2007).

Os polifenóis constituem uma família de compostos químicos, da qual já foram identificadas mais de 8 000 substâncias (Azevedo, 2007; Leite, 2009; Gomes, 2010), e que apresentam uma estrutura comum, com, pelo menos um anel aromático ao qual se ligam um ou vários grupos hidroxilo. Esta família de compostos engloba desde moléculas simples até moléculas com elevado grau de polimerização, e com base na sua estrutura carbonada específica pode ser dividida em diferentes classes (Figura 1.1).

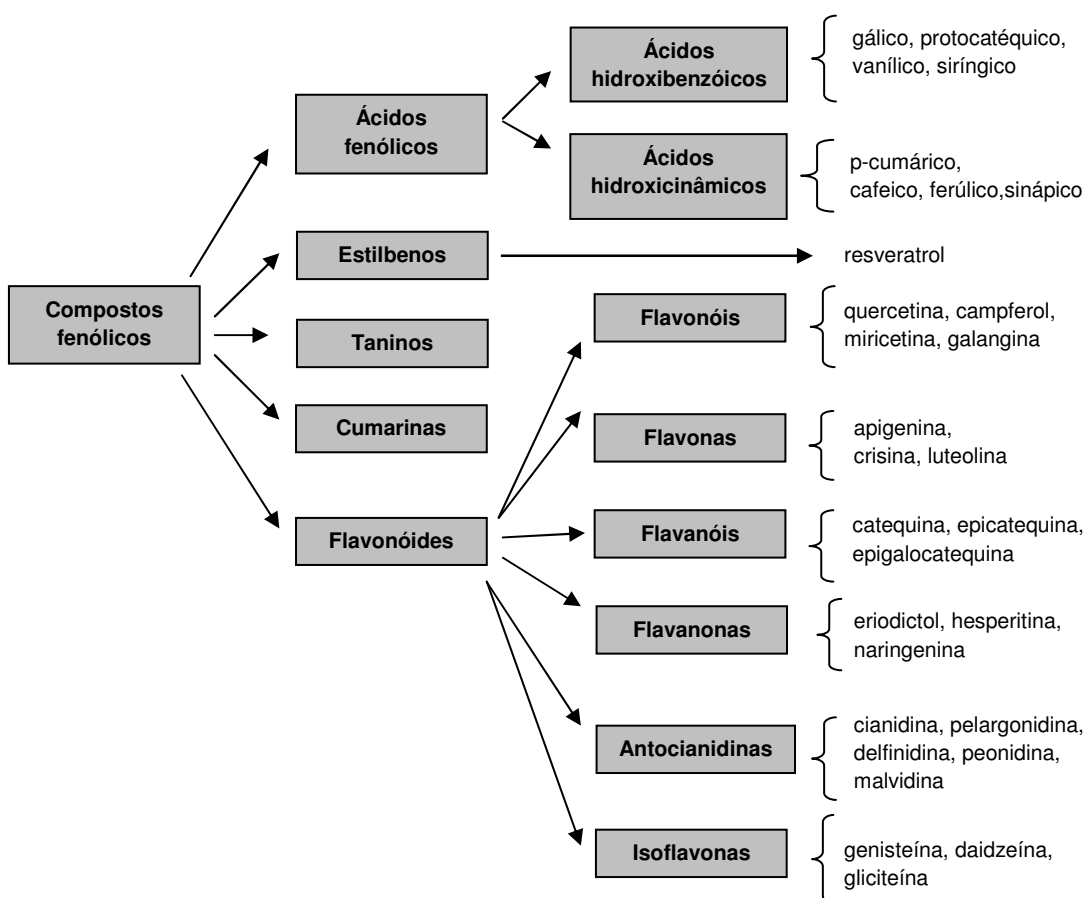


Figura 1.1 - Principais classes de compostos fenólicos (adaptado de Ferreira e Abreu, 2007).

Os polifenóis encontram-se no bago da uva, particularmente nas suas películas e grainha e podem encontrar-se na forma livre ou ligados a açúcares ou a proteínas (Cataneo *et al.*, 2008). No vinho, os polifenóis apresentam estruturas e concentrações variáveis que dependem da variedade da uva, da área de cultivo, das condições edafoclimáticas e dos métodos de vinificação aplicados (Faria, 2000; Souza *et al.*, 2006; Azevedo, 2007). Também durante a fermentação as leveduras podem dar origem a compostos fenólicos que acabam por permanecer no vinho. Exemplos destes compostos são o tirosol ou o triptofol (Jackson, 2000). Os polifenóis presentes no vinho podem ainda ser cedidos pela madeira das barricas onde o vinho é armazenado ou serem adicionados com intenção enológica, uma vez que contribuem para a estabilidade físico-química desta bebida (Hipólito-Reis, 2008; Sanza *et al.*, 2012).

Os compostos fenólicos desempenham um papel importante na qualidade do vinho, contribuindo para o seu sabor e aroma, e sendo, em grande parte, responsáveis pelas diferenças entre o vinho branco e tinto, particularmente no que se refere à sua coloração e características organolépticas. Participam nas transformações do vinho durante a sua produção, nomeadamente na maceração, e no seu envelhecimento, conferindo protecção contra a oxidação, e tendo a função de agentes de formação e estabilidade da cor e adstringência no vinho. Possuem, igualmente, propriedades bactericidas e antioxidantes, podendo, por isso, auxiliar na protecção de algumas doenças (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Faria, 2000; Monteiro, 2002; Porto, 2002; Assunção, 2003; Moraes & Locatelli, 2010).

Os compostos fenólicos distribuem-se de modo diferente pelas diversas partes da uva, sendo que nas grainhas estão fortemente localizados nos tecidos mais externos onde se encontram os flavanóis e o ácido gálico, na polpa estão os ácidos tartáricos, nos vasos fibrovasculares estão presentes os flavanóis e os ácidos hidroxibenzóicos e na película estão todos os anteriores e ainda os flavonóis e as antocianinas (Cabrita *et al.*, 2003). A quantidade de polifenóis presente no vinho difere de forma significativa entre vinhos novos e envelhecidos e entre vinhos brancos e tintos, variando entre 1 000 mg/L e 4 000 mg/L no vinho tinto e entre 200 e 300 mg/L no vinho branco (Bravo, 1998; Faria, 2000). Esta diferença no teor em polifenóis resulta dos diferentes processos tecnológicos utilizados na produção do vinho branco e do vinho tinto, nomeadamente no maior contacto com todas as partes sólidas da uva que se verifica na produção do vinho tinto.

O grupo dos ácidos fenólicos compreende os ácidos hidroxibenzóicos (Figura 1.2A) e os ácidos hidroxicinâmicos (Figura 1.2B). Nas uvas, os ácidos fenólicos são principalmente os ácidos hidroxicinâmicos que se encontram nos vacúolos das células das películas e polpas, sob a forma de ésteres tartáricos ou ligados a açúcares, e em menor quantidade na sua forma livre (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Cabrita *et al.*, 2003; Gonçalves, 2007). Estes compostos desempenham um papel importante nas oxidações que conduzem ao acastanhamento dos mostos e dos vinhos e, embora não exerçam uma influência directa no gosto dos vinhos, estão implicados no aparecimento de fenóis voláteis com consequentes alterações aromáticas (Cabrita *et al.*, 2003). São os compostos fenólicos mais importantes nos vinhos brancos, devido a existirem na polpa da uva e a serem facilmente extraídos para o mosto, sendo, no entanto, a

sua concentração mais elevada nos vinhos tintos, com teores que oscilam de 100 a 200 mg/L, enquanto no vinho branco correspondem entre 10 a 20 mg/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Exemplos de ácidos fenólicos presentes nos vinhos são os ácidos cafeíco, ferúlico, *p*-cumárico e gálico (Jackson, 2000).

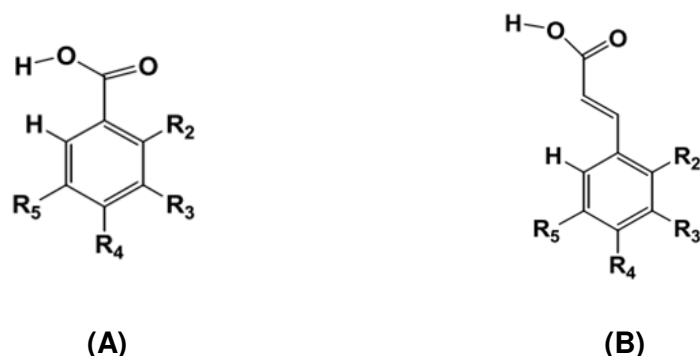


Figura 1.2 - Estrutura geral dos ácidos fenólicos: (A) Estrutura geral dos ácidos hidroxibenzóicos e (B) Estrutura geral dos ácidos hidroxicinâmicos (Gomes, 2010).

Dos estilbenos identificados, o resveratrol (Figura 1.3) é o mais reconhecido no vinho. Este composto possui duas formas isómeras, *trans* e *cis*-resveratrol, sendo que ambas as formas podem apresentar-se ligadas a uma molécula de glucose formando os respectivos glicosídeos (Schmatz, 2009). O resveratrol localiza-se na película e nas grainhas da uva sendo extraído durante a maceração. Dada a sua localização, este composto surge em maior quantidade no vinho tinto em relação ao vinho branco e ao rosé (Penna & Hecktheuer, 2004, Brito, 2007; Schmatz, 2009; Moraes & Locatelli, 2010; Fernández-Mar *et al.*, 2012).

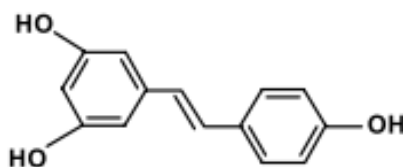


Figura 1.3 - Estrutura química do resveratrol (Brito, 2007).

È difícil prever a concentração de resveratrol presente nos vinhos, dado que a sua biossíntese é afectada por muitos factores. Por exemplo, a determinação deste composto em cerca de 100 amostras de vinho tinto produzido em diferentes países e a partir de diferentes castas, mostra que a gama de variação pode ir desde o não detectado até 14.3 mg/L (Fernández-Mar *et al.*, 2012).

O resveratrol é então uma fitoalexina sintetizada pela uva em resposta de *stress* causado por factores como, por exemplo, a ocorrência de uma infecção ou a exposição intensa à radiação ultravioleta. Desta forma, a exposição das uvas a factores de *stress* pode fazer aumentar a concentração de resveratrol nas uvas e, conseqüentemente nos vinhos (Neto & Cosenza, 1994; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Penna & Hecktheuer, 2004; Brito, 2007; Fernández-Mar *et al.*, 2012). Por exemplo, diversos trabalhos indicam que os vinhos brasileiros apresentam, de um modo geral, teores elevados de resveratrol, pensando-se que isso se deva ao clima húmido existente em determinados locais do Brasil (Serra Gaúcha), que possa favorecer a proliferação de fungos, principalmente o *Botrytis cinérea*, podendo, desta forma, levar a uma estimulação da produção deste composto fenólico (Penna & Hecktheuer, 2004). No entanto, é também sabido que infecções muito severas acabam por levar a uma diminuição da síntese deste composto (Jackson, 2000). Também a utilização de leveduras transgênicas durante a fermentação pode permitir alcançar teores mais elevados de resveratrol nesta bebida (Fernández-Mar *et al.*, 2012).

Na literatura não existe consenso quanto ao número de flavonóides identificados nas plantas, pelo que diversos autores mencionam quantidades diferentes. Dias (2011) refere que já foram reconhecidos cerca de 4 000 flavonóides, enquanto Azevedo (2007) menciona a identificação de mais de 6 400 e Araújo e colaboradores (2005) e Gomes (2010) referem a identificação de mais de 8 000 destes compostos. Os flavonóides apresentam uma estrutura comum caracterizada por dois anéis benzênicos ou aromáticos (denominados anel A e B) unidos por um anel heterocíclico que contém um átomo de oxigénio (anel C) (Figura 1.4).

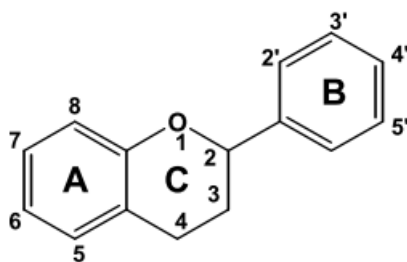


Figura 1.4 - Estrutura básica dos flavonóides (Porto, 2002; Gomes, 2010; Dias, 2011).

De acordo com a sua estrutura os flavonóides podem ser divididos em sub-grupos que incluem as flavonas, flavanóis, flavonóis, flavanonas, isoflavonas e antocianidinas (Figura 1.5) (Ferreira & Abreu, 2007). Nas plantas estes compostos podem encontrar-se livres ou em formas polimerizadas com outros flavonóides (taninos condensados), com açúcares (glicosídeos de flavonóides) ou com outras substâncias (Jackson, 2000).

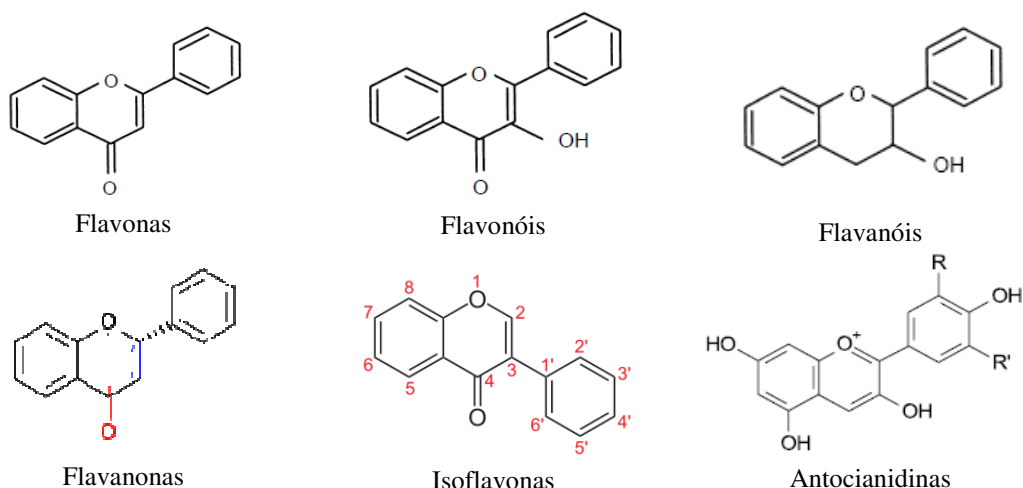


Figura 1.5 - Estrutura básica de alguns tipos de flavonóides (adaptado de Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

A extracção dos flavonóides das uvas para o vinho depende da quantidade destes compostos que existe nestes frutos, a qual, por sua vez é influenciada pela variedade, clima e grau de maturação, bem como pelo processo de vinificação e ainda pelo pH, temperatura e concentração em anidrido sulfuroso e em etanol. Devido a todos estes factores o teor destes compostos pode variar consideravelmente de vinho para vinho (Jackson, 2000).

Os flavonóis (Figura 1.6) agrupam compostos como a quercetina, o campferol e a miricetina, estando estes todos presentes no vinho tinto enquanto no vinho branco apenas estão presentes os dois primeiros (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Cabrita *et al.*, 2003). Os flavonóis estão presentes nas películas das uvas em concentrações que variam de 10 a 100 mg/kg, sendo, por isso, mais abundantes no vinho tinto (Silva, 2006).

Num estudo realizado por Zhu e colaboradores (2012), em que se comparou o perfil em flavonóides das películas de uvas de 21 diferentes espécies e cultivares de uvas permitiu a identificação de diversos flavonóis, na forma livre ou glicosilada, entre os quais se encontravam quercetina, campferol, miricetina, isoramnetina, siringetina e laricitrina, sendo os derivados de quercetina dominantes em todas as amostras e representando 68,84% do total de flavonóis. A quercetina é assim o flavonol mais abundante no vinho tinto, tendo o seu doseamento em diferentes amostras deste vinho permitido identificar valores entre os 4 e os 16 mg/L enquanto no vinho branco se verificaram valores de aproximadamente 1 mg/L (Behling *et al.*, 2004).

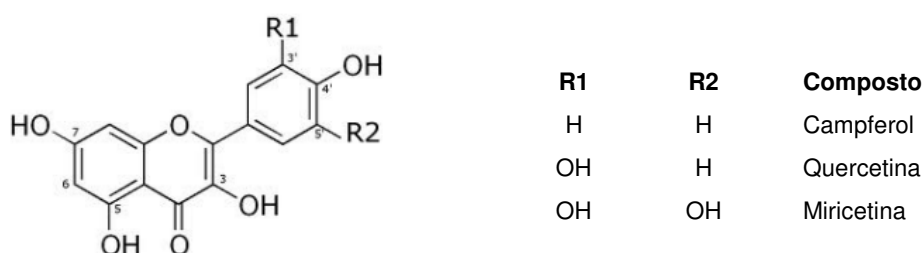


Figura 1.6 - Estrutura química de diferentes flavonóis (adaptado de Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

As antocianinas, ou seja as formas glicosiladas das antocianidinas, (Figura 1.7) constituem outro dos importantes grupos de flavonóides presentes no vinho, sendo espécies bastante reactivas em que a glicosilação confere uma maior estabilidade. Estes compostos são responsáveis pela coloração vermelho violeta ou azul das plantas e bebidas como o vinho tinto, tendo já sido identificadas aproximadamente 600 estruturas diferentes. As antocianinas representam uma parte importante tanto quantitativa como qualitativa dos flavonóides das uvas de castas tintas e localizam-se sempre nas películas e, excepcionalmente em alguns casos, na polpa de uvas tintureiras (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Cabrita *et al.*, 2003; Dias, 2011).

As antocianinas existem num equilíbrio dependente do pH em quatro formas estruturais diferentes com colorações variáveis. Assim, a um pH compreendido entre 1 e 3, as antocianinas adquirem uma coloração vermelha, em condições de pH mais perto da neutralidade adquirem uma coloração púrpura, podendo adquirir uma coloração amarela em condições mais alcalinas (Azevedo, 2007).

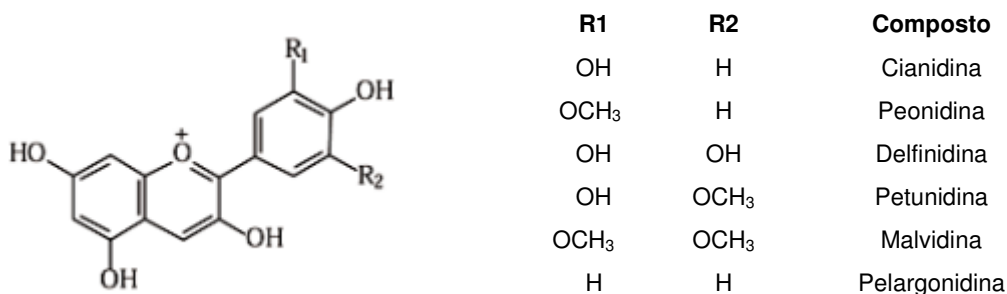


Figura 1.7 - Estrutura química básica e principais antocianidinas (adaptado de Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Azevedo, 2007).

Zhu e colaboradores (2012) analisaram amostras de uvas tintas de diferentes cultivares e de diferentes regiões para comparação do teor de compostos fenólicos, constatando a existência de grandes diferenças no perfil de antocianinas totais nas diversas amostras mesmo entre cultivares do mesmo local de origem. A cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina, malvidina e pelargonidina foram identificadas nas diversas uvas analisadas, sendo, de um modo geral, a malvidina e seus derivados as formas predominantes, e chegando a representar nas uvas *Vitis vinífera* 77,8% do total de antocianinas.

As antocianinas ocorrem em concentrações elevadas na dieta mediterrânica, apresentando concentrações no vinho tinto entre 100 a 1 000 mg/L, sendo possível encontrar concentrações de 400 mg/L num vinho novo e concentrações de 90 mg/L num vinho de dois anos (Azevedo, 2007). Esta diferença resulta do facto de durante o envelhecimento, o conteúdo em polifenóis poder ficar mais complexo, como resultado da formação de novos pigmentos devido às reacções entre as antocianinas e os outros fenóis e à cicloadição de diferentes compostos. A extensão destas reacções depende de factores externos, como, por exemplo, as técnicas de vinificação, e inerentes à composição química do próprio vinho (Azevedo, 2007). Por esta

razão os vinhos novos ou jovens e envelhecidos apresentam diferenças no que diz respeito à qualidade e quantidade dos compostos fenólicos nomeadamente no grau de polimerização destes, sendo este mais elevado nos vinhos envelhecidos (Faria, 2000). A polimerização das antocianinas com os taninos protege-as da oxidação e da possibilidade de sofrerem outras modificações químicas, desempenhando, por isso, um papel importante na estabilização da cor dos vinhos (Jackson, 2000).

Os flavanóis mais importantes no vinho são a (+) catequina, (-) epicatequina, o galato (-) epicatequina e a galocatequina (Figura 1.8) (Jordão, 2000; Nascimento, 2011). Em vinhos brancos, devido ao contacto limitado com as películas e, portanto à baixa extracção de flavonóis, as catequinas são os principais flavonóides e podem estar envolvidas, quer no acastanhamento dos vinhos brancos ou tintos, quer na formação de algum amargor (Cabrita *et al.*, 2003)

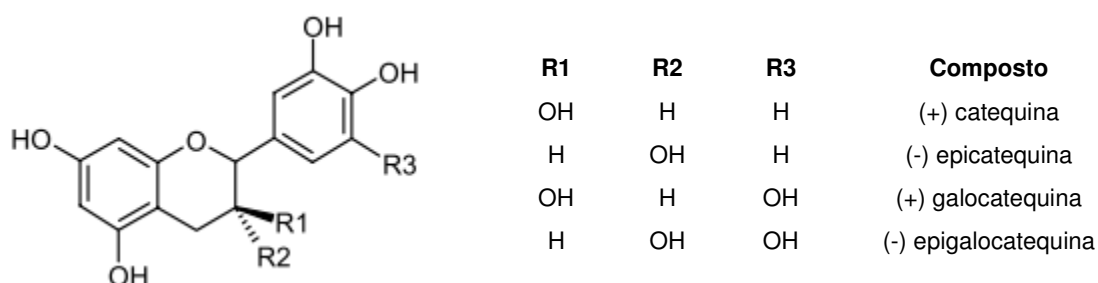


Figura 1.8 - Estrutura química das catequinas e galocatequinas (adaptado de Gonçalves, 2007).

Os taninos são os compostos fenólicos que têm a capacidade de se combinarem com as proteínas e outros polímeros como os polissacáridos, provocando a sensação de adstringência, que não é mais que a perda do efeito de lubrificação da saliva causada pela precipitação das suas proteínas (Cabrita *et al.*, 2003). Os taninos podem ser classificados em hidrolisáveis e não hidrolisáveis ou taninos condensados.

Os taninos hidrolisáveis (Figura 1.9) resultam da ligação de um açúcar, geralmente a glucose, a um composto fenólico, principalmente o ácido gálico (galitaninos) ou o ácido elágico (elagitaninos), podendo sofrer hidrólise e libertar os respectivos ácidos fenólicos. Estas moléculas são hidrossolúveis e são transferidas rapidamente para meios hidroalcoólicos, tal como o vinho (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Estes compostos não contêm moléculas de flavonóides e não aparecem naturalmente nas uvas mas estão presentes na madeira, existindo em grande quantidade na madeira de carvalho, e, por isso, a sua presença no vinho resulta então do envelhecimento em barricas de madeira ou da adição de taninos enológicos (Cabrita *et al.*, 2003; Spranger & Sun, 2009). Esta adição de taninos é uma prática enológica que visa a melhoria do processo de clarificação do vinho e das características organolépticas destes, nomeadamente a melhoria do sabor (Gonçalves, 2007).

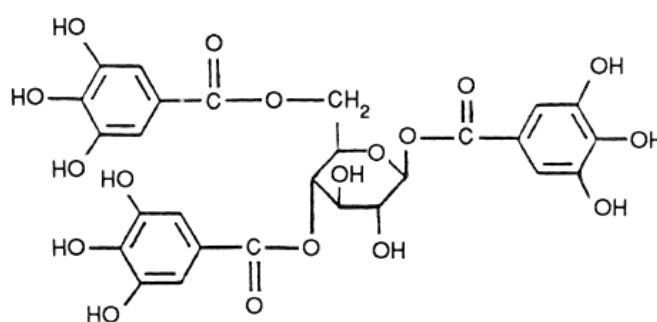


Figura 1.9 - Estrutura química dos taninos hidrolisáveis (adaptado de Jackson, 2000).

Os taninos condensados (Figura 1.10), também designados por proantocianidinas já aparecem nas uvas e são formados por moléculas de flavonóides, em particular de flavanóis, não são facilmente hidrolisáveis e encontram-se essencialmente nas partes sólidas da uva estando distribuídos por ordem decrescente: nas grainhas, nos engaços e nas películas, e em menor quantidade na polpa e por esta razão são mais abundantes no vinho tinto (Jordão, 2000; Dias, 2011; Nascimento, 2011). Assim, a unidade fundamental das proantocianidinas são as moléculas de flavanóis, e consoante o número de vezes que esta unidade se repete, assim as proantocianidinas podem ser dímeros, trímeros, oligoméricas ou polímeros.

Estes compostos são os principais responsáveis pelas características adstringentes dos vinhos, e assumem uma importante função no seu envelhecimento, já que a sua associação com as antocianinas e as modificações no seu estado de condensação influenciam a cor e outras características organolépticas dos vinhos. A massa molecular média dos taninos vai aumentando à medida que o vinho vai envelhecendo. Assim, os vinhos jovens possuem taninos com uma massa molecular média inferior à dos vinhos mais velhos. Os taninos condensados mais abundantes no vinho são polímeros de catequina e epicatequina (Nascimento, 2011; Gonçalves, 2007).

Pela sua localização nas uvas é de prever que a concentração de taninos condensados seja muito superior no vinho tinto que no vinho branco, devido à presença de maceração durante a elaboração do vinho tinto. Porém, se for aplicado a maceração pelicular na produção de vinho branco, a quantidade destes compostos aumenta. Outro factor que contribui para a maior concentração de taninos no vinho tinto é o maior teor alcoólico que este apresenta, e que facilita a sua extracção, uma vez que esta é directamente proporcional à quantidade de álcool do meio (Guerra, 2003). Assim, para o vinho tinto a concentração de taninos condensados depende do tipo de casta e das condições de vinificação e encontra-se normalmente compreendida entre 1 e 4 g/L. No caso do vinho branco esta concentração é de aproximadamente 100 mg/L, quando a clarificação do mosto é bem efectuada, variando entre 200 e 300 mg/L se durante a fermentação estiverem presentes as borras (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

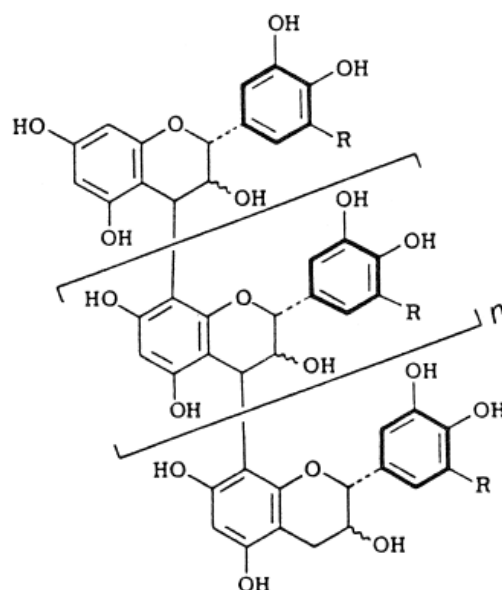


Figura 1.10 - Estrutura química dos taninos condensados (adaptado de Jackson, 2000).

No vinho os polifenóis desempenham um importante papel antioxidante. Estes compostos podem sofrer oxidação enzimática, pela acção das polifenol oxidases libertadas durante a prensagem das uvas, ou oxidação não enzimática (autooxidação) originando a formação de quinonas. As quinonas podem reagir com outros fenóis promovendo a sua polimerização. Assim, as reacções que vão levando ao aparecimento dos polifenóis complexos, com elevado grau de polimerização, vão consumindo o oxigénio impedindo que este possa participar na oxidação de outros componentes do vinho (Jackson, 2000).

1.9. Outros compostos

Para além das diversas famílias de compostos já referenciadas encontram-se igualmente nos vinhos outras famílias de compostos químicos, como, por exemplo, aldeídos, cetonas, acetais, lactonas e outros compostos heterocíclicos de oxigénio, terpenos e compostos sulfurados.

Os diversos álcoois presentes no vinho podem sofrer diferentes reacções e, assim, originar o aparecimento de outras classes de compostos, tais como ésteres, aldeídos ou cetonas. Os ésteres podem formar-se por reacção entre um álcool e um ácido com eliminação de uma molécula de água. O vinho contém um grande número de álcoois e de ácidos diferentes e, por consequência, o número de ésteres também é elevado. Dada a importância quantitativa do etanol e o facto dos álcoois primários serem muito reactivos, os esterres etílicos são os mais abundantes. Os compostos carbonilo presentes no vinho são aldeídos e cetonas, sendo o etanal o mais relevante podendo chegar a representar 90% do total de aldeídos (Jackson,

2000). Este composto parece estar envolvido na evolução da cor do vinho tinto durante o seu envelhecimento, facilitando a polimerização de alguns compostos fenólicos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

Os acetais formam-se durante o envelhecimento do vinho por reacção entre aldeídos e álcoois. Já foram identificados em diversas amostras de vinho mais de vinte acetais diferentes, que, no entanto, não parecem contribuir de forma significativa para as suas propriedades sensoriais. As lactonas podem provir das uvas, serem formadas durante as etapas de fermentação e envelhecimento ou aparecerem por terem sido extraídas da madeira de carvalho, quando o envelhecimento do vinho se processa neste tipo de tonéis ou barricas. Neste último caso, as lactonas parecem estar parcialmente envolvidas no desenvolvimento das fragrâncias típicas dos vinhos envelhecidos em carvalho (Jackson, 2000).

Os terpenos constituem um importante grupo de compostos aromáticos, sendo responsáveis pelo aroma de muitas plantas e frutos. Deste modo, os terpenos contribuem para o aroma frutado característico de diversos vinhos. O conteúdo em terpenos varia consideravelmente com a cultivar utilizada e também vai sofrendo alterações durante o envelhecimento, quer em termos de tipo de terpenos, quer em termos de proporções relativas. Dependendo dos vinhos, essas alterações no tipo e teor de terpenos, podem ou não afectar o aroma final da bebida (Jackson, 2000).

O sulfureto de hidrogénio e os compostos organosulfurados voláteis existem em concentrações residuais no vinho. Contudo, mesmo quando presentes em concentrações vestigiais, estes compostos podem ter um impacto negativo nas propriedades sensoriais do vinho. Os compostos voláteis de enxofre podem formar-se durante a fermentação, a partir dos aminoácidos sulfurados, podendo também ser produzidos durante a autólise das células das leveduras, sendo a sua produção estimulada pela exposição à luz (Jackson, 2000).

1.10. Conservantes adicionados durante a produção do vinho

Nos vários constituintes do vinho encontram-se, igualmente, conservantes que são adicionados durante o processo de produção, sendo que destes o mais importante é o anidrido sulfuroso. O anidrido sulfuroso é adicionado em várias etapas do processo de vinificação devido às suas propriedades antissépticas e antioxidantes. Assim, este composto é adicionado para prevenir o início prematuro da fermentação, inibindo a acção das bactérias e leveduras presentes na flora natural das uvas e que poderiam levar ao aparecimento de odores e sabores indesejáveis ou conduzir à deterioração do vinho. O anidrido sulfuroso combina-se com o oxigénio livre e inactiva enzimas oxidativas, impedindo, deste modo, a ocorrência das reacções que poderiam conduzir a um conjunto de defeitos de oxidação reflectidas nas qualidades sensoriais do vinho. Também se combina com alguns compostos presentes no vinho inibindo reacções químicas indesejáveis, contribuindo assim para a estabilização de cor e sabor do vinho, mantendo a segurança microbiológica do produto e favorecendo a sua preservação (Nunes *et al.*, 2012).

O valor limite estabelecido pela legislação para a concentração de anidrido sulfuroso nos vinhos é de 150 mg/L para o vinho tinto e de 200 mg/L para os vinhos brancos e rosé (IVV, 2012). O vinho tinto necessita então de uma menor dose visto que possui mais compostos fenólicos, que por si só são uma defesa natural do vinho contra a oxidação. A concentração máxima de sulfitos nos vinhos tem vindo a ser progressivamente reduzida e a sua presença é de menção obrigatória no rótulo da garrafa quando presente em concentrações superiores a 10 mg/L. Dito isto, estão a ser desenvolvidas estratégias tecnológicas que visam a minimização ou mesmo a eliminação da adição de anidrido sulfuroso, produzindo vinhos com reduzidos teores de sulfitos (Nunes *et al.*, 2012).

2. EFEITOS DO VINHO NA SAÚDE

O vinho é reconhecido como uma bebida vinculada à história do Homem, sendo diversas as razões da sua produção e consumo perante os diferentes povos, tanto pelas suas características como também pelos benefícios para a saúde que foram descobertos ao longo dos anos. Isto porque registos históricos mostram que o uso medicinal do vinho tem sido uma prática decorrente há mais de 2 000 anos. O uso medicinal do vinho foi largamente aplicado pelos gregos, e Hipócrates (460-370 a.C.) relatou sobre as propriedades terapêuticas do vinho como uma bebida usada como suplemento dietético na caquexia, diurética, purgativa ou laxante, auxiliar na redução da febre, anti-séptica, e que era também utilizado nos emplastros e ainda contra a depressão durante a convalescença (Neto & Cosenza, 1994; Panigas, 1994; Penna & Hecktheuer, 2004).

A dieta mediterrânica, da qual faz parte o consumo de vinho, é, por excelência, um contributo para uma alimentação saudável pela diversidade e qualidade dos alimentos que a compõe. O vinho é considerado um complemento alimentar pelo seu conteúdo elevado em água, além de glúcidos, que fornecem energia sob a forma de glucose e frutose, minerais, sendo alguns indispensáveis ao bom funcionamento do organismo e referidos no capítulo anterior. Apesar de até a um passado recente, as preocupações relativas às consequências que o consumo de bebidas alcoólicas, nomeadamente do vinho e da cerveja, podessem ter na saúde, estarem direccionadas para o efeito tóxico do álcool, estudos entretanto efectuados têm vindo a estabelecer uma ligação entre efeitos benéficos para a saúde e o consumo moderado do vinho.

Uma importante descoberta sobre esta temática, dos efeitos benéficos para a saúde associados ao consumo moderado do vinho, foi efectuada em 1992 quando Renaud e Langeril apresentaram um relatório científico definido como “Paradoxo Francês”, após a realização de um estudo epidemiológico que abrangeu diversos países. O projecto MONICA (“Monitoring System for Cardiovascular Disease”) da Organização Mundial da Saúde (OMS), durante os anos de 1985 a 1993, estudou as características populacionais desses países, tendo ficado demonstrada a existência de uma menor incidência de doenças cardiovasculares na França, assim como na Bélgica e na Espanha, apesar da ingestão elevada de gorduras saturadas. Num subgrupo do estudo MONICA na Alemanha, na Escócia e na França observou-se que o consumo moderado de bebidas alcoólicas, tanto de vinho como de cerveja, estava associado ao menor índice deste tipo de doenças (Neto & Cosenza, 1994; Panigas, 1994; Lippi *et al.*, 2010; Moraes & Locatelli, 2010).

Apesar do sucesso que o paradoxo francês teve perante a população, promovendo um aumento das vendas de vinho, não conseguiu obter unanimidade na comunidade científica pelo que existiu uma controvérsia em relação aos benefícios do vinho, já que autores de outros estudos chegaram a conclusões diferentes citando até que o elevado consumo de álcool faria o efeito contrário. A partir deste acontecimento, muitos foram os estudos desenvolvidos no

mundo inteiro, os quais comprovaram que o vinho, desde que ingerido em quantidade moderada, tinha efeitos benéficos em diversas patologias, contribuindo para a saúde humana e, deste modo, para o aumento da qualidade e da esperança de vida (Neto & Cosenza, 1994).

Para a confirmação dos efeitos benéficos atrás citados é relevante a qualidade do vinho, pois existem pequenas variações na concentração das diversas substâncias benéficas presentes em cada casta e, conseqüentemente, em cada tipo de vinho, e a dose consumida que deve ser moderada, tanto para o vinho como para qualquer outra bebida alcoólica. Contudo, em relação à dose existem muitos factores, tais como a idade, o índice de massa corporal, a etnia, o histórico familiar, o estado geral de saúde e o uso de medicação que influenciam a definição das directrizes de consumo. Para além destes factores, o tipo e quantidade de comida que acompanha o consumo do vinho, também são condições que influenciam a absorção do álcool (<http://www.wineinmoderation.eu>, acedido em Agosto de 2012).

Consequentemente existe uma variação naquilo que se define como dose moderada entre os grupos de populações bem como de diferentes países. Para a OMS, o termo “consumo moderado” é um termo impreciso que define um padrão de consumo no qual o álcool por si só não causa problemas (Andrade & Oliveira, 2009). Daí, baseado em provas científicas, foi estabelecida uma directriz de consumo considerada “segura” ou “de baixo risco” que representa a quantidade de álcool que um indivíduo pode consumir de forma segura sem aumentar significativamente o risco de ocorrência de efeitos negativos nem para a saúde nem sociais, e que pode diferir em cada país (Andrade & Oliveira 2009; <http://www.wineinmoderation.eu>, acedido em Agosto de 2012).

Para facilitar a informação entre os países sobre a quantidade de álcool consumido, este é expresso em gramas de álcool. Deste modo, o critério utilizado pela OMS para consumo moderado de álcool é de uma a duas doses por dia correspondendo cada dose a 150 mL de vinho. Sendo a dose recomendada de 30 g de álcool por dia para os homens, o que equivale a duas doses, e de 15 g de álcool para as mulheres equivalente a 1 dose (Ribeiro, 2009; Moraes & Locatelli, 2010), devendo este consumo ser sempre acompanhado de refeições. Assim, na ausência de contra-indicação o consumo diário de 200 a 300 mL de vinho (com 12% de graduação alcoólica) pode constituir um factor de protecção da saúde (Silva & Salvini, 2009; Moraes & Locatelli, 2010). Contudo, o vinho, por ser uma bebida alcoólica, não é recomendado a grávidas, nem a menores e, devido às diferenças fisiológicas, deve ser inferior para pessoas com idade superior a 65 anos (Andrade & Oliveira, 2009).

O risco relativo (razão entre o número de casos na população que bebe e o número de casos na população que não bebe) de desenvolver uma determinada doença (aterosclerose e outras doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão, cancro, úlcera gástrica, pedras nos rins, degeneração macular relacionada com a idade ou alteração da densidade óssea), quando normalizado para diversas variáveis como sejam a idade, o sexo, a etnia, a existência de outras patologias e hábitos sociais, parece diminuir com o consumo moderado de vinho. Com efeito a associação entre estas duas variáveis parece ser demonstrada por uma curva-padrão

em forma de U considerando a população controlo com risco de 1 (Figura 2.1) (Lorimier, 2000). Desta forma, tanto os abstémicos como os consumidores de elevadas quantidades de álcool demonstram riscos mais elevados do que os consumidores moderados, confirmando assim um efeito protector do vinho apenas quando consumido em quantidades moderadas. Aliás, o consumo desta bebida em pequenas doses parecem conferir um efeito mais protector do que uma mesma quantidade mas ingerida numa única vez (Daluz & Coimbra, 2001).

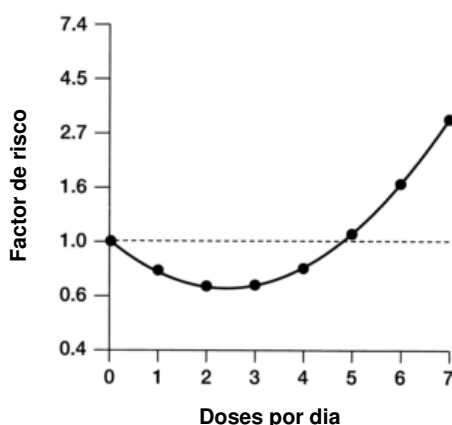


Figura 2.1 - Curva-padrão relativa aos riscos adversos de desenvolver uma determinada doença e a quantidade de álcool ingerida por dia, considerando a população controlo com risco de 1 (Lorimier, 2000).

O consumo moderado de vinho tem sido então, considerado benéfico para a saúde humana, sendo atribuído a esta bebida um carácter antioxidante e preventivo de diversas patologias devido não apenas pelo seu abundante conteúdo em compostos bioactivos, os compostos fenólicos, mas também pela acção do etanol no organismo quando consumido em doses moderadas. Contudo, o seu consumo excessivo acarreta sérios problemas para a saúde. Neste âmbito são de seguida referidos diversos estudos sobre os potenciais efeitos positivos e negativos para a saúde humana que têm vindo a ser descritos como estando associados ao consumo de vinho e às substâncias que o constituem.

2.1. Ingestão e Biodisponibilidade

Os efeitos biológicos, positivos ou negativos, relacionados com a ingestão dos alimentos, em particular com a ingestão do vinho resultam da presença nesses alimentos de compostos capazes de interagir com o organismo humano causando o tal efeito benéfico ou tóxico. No entanto, para poderem exercer esses efeitos, os compostos bioactivos presentes nos alimentos têm de resistir ao processo de digestão gastrointestinal, serem absorvidos e não serem biotransformados pelas enzimas de biotransformação a metabolitos sem actividade biológica. Assim, para além de efectuar o doseamento destes compostos nos alimentos é igualmente importante determinar a proporção destes que é libertada da matriz do alimento e que fica

realmente disponível para ser absorvida, ou seja a sua bioacessibilidade, e a proporção que é realmente absorvida, isto é, que passa através das membranas celulares, ficando disponível para ser utilizada pelas células, ou seja a sua biodisponibilidade.

A digestão começa na boca onde os alimentos são triturados e misturados com a saliva, uma secreção fluida que contém minerais, enzimas como, por exemplo, a α -amilase ou a aldeído desidrogenase e compostos ou enzimas com actividade antimicrobiana, como, por exemplo a imunoglobulina A e a lisozima (Kohlmeier, 2003).

Da boca o bolo alimentar (mistura dos alimentos triturados com a saliva) progride através do esófago para o estômago, onde ocorre a sua mistura com o suco gástrico, rico em ácido clorídrico e em enzimas como a pepsina ou a lipase gástrica. A parede do estômago é constituída por camadas musculares que misturam os alimentos através dos movimentos peristálticos. Alguns compostos presentes nos alimentos podem ser absorvidos ao nível do estômago. Exemplos destes compostos são o etanol, o molibdénio e a nicotinamida (Kohlmeier, 2003) e alguns ácidos fracos, que no pH do estômago se encontram na forma não ionizada, passando, por isso, mais facilmente através das membranas celulares (Shibamoto & Bjeldanes, 1993). A acção do suco gástrico sobre o bolo alimentar origina o quimo que passa ao intestino delgado através do piloro. O esvaziamento gástrico é progressivo e depende da composição e consistência do quimo, sendo mais rápido se este for líquido e rico em glúcidos e mais lento se este for rico em gorduras (Almeida & Afonso, 1997)

No intestino delgado completa-se a digestão química do quimo, originando o quilo. As secreções produzidas pelo fígado e pâncreas desempenham aqui um papel fundamental. À medida que vão avançando no intestino quer os nutrientes quer os não nutrientes presentes nos alimentos vão sendo absorvidos. Essa absorção pode resultar de um processo de difusão passiva, transporte activo ou passivo utilizando transportadores ou pinocitose (Kohlmeier, 2003). Os compostos que não foram absorvidos ao longo do intestino delgado acabam por chegar ao cólon onde podem sofrer a acção da flora intestinal e onde ainda podem ser absorvidos.

Após a sua absorção, os compostos não nutrientes, podem sofrer a acção das enzimas de biotransformação. Uma vez que os meios de excreção são maioritariamente aquosos, as enzimas de biotransformação têm por objectivo efectuar a metabolização dos compostos não nutrientes de modo a torná-los mais hidrofílicos e, por isso, mais facilmente excretáveis, de modo a evitar que ocorra a sua acumulação no organismo. O processo de biotransformação pode ser dividido em duas fases distintas, designadas por I e II. Na fase I de biotransformação ocorrem reacções de hidrólise, oxidação ou redução, com o objectivo de expor ou introduzir grupos funcionais nas moléculas, daí resultando um aumento da sua polaridade. Na fase II, os produtos das reacções de fase I, ou os compostos que já possuam grupos funcionais, sofrem reacções de conjugação com moléculas que apresentam, na sua generalidade, carácter acentuadamente hidrofílico, tais como o glutathione, o ácido glucurónico ou o ião sulfato, resultando num incremento muito significativo da sua solubilidade em água (Duarte, 2008). Ao alterar as características físico-químicas dos compostos químicos, a biotransformação pode

modificar as suas propriedades biológicas tornando compostos bioactivos em metabolitos sem actividade biológica ou pode originar metabolitos bioactivos a partir de precursores sem actividade biológica.

2.1.1 Ingestão e biodisponibilidade dos polifenóis

Nos últimos anos têm sido realizados diversos ensaios epidemiológicos, *in vivo* ou *in vitro* que sugerem que o consumo de vinho, especialmente de vinho tinto, possa ter um papel protector sobre a saúde humana, nomeadamente, no que diz respeito à prevenção das doenças cardiovasculares e de outras patologias, como, por exemplo, o cancro. Esses estudos sugerem que o papel protector do vinho possa resultar das propriedades bioactivas de alguns dos seus componentes, em particular das propriedades bioactivas dos seus compostos fenólicos.

Muitos têm sido os trabalhos publicados na literatura científica que atribuem múltiplas propriedades bioactivas aos polifenóis. Assim, estes compostos, têm demonstrado possuir propriedades antioxidantes, anti-carcinogénicas, cardioprotectoras, anti-inflamatórias, anti-alérgicas e antimicrobianas podendo, por isso, proteger o organismo de algumas infecções causadas por microrganismos patogénicos, além de inibirem a síntese de colesterol endógeno, diminuir a agregação plaquetária e reduzirem a ocorrência de problemas trombóticos (Perez, 2000; Moraes & Locatelli, 2010).

Os polifenóis são muito abundantes na dieta mediterrânica podendo o seu consumo atingir 1 g por dia (Cerqueira *et al.*, 2007). Os polifenóis estão presentes no vinho, podendo, assim, esta bebida constituir uma importante fonte alimentar destes compostos (Porto, 2002). Contudo as propriedades biológicas benéficas descritas para os compostos fenólicos presentes no vinho, e também noutros alimentos da dieta, dependem da sua biodisponibilidade, isto é, a quantidade do composto que atinge o seu local de acção. A absorção e metabolização dos polifenóis são muito variáveis, devido a estes compostos apresentam uma diversidade de estruturas químicas, com pesos moleculares e graus de polimerização variáveis e solubilidade diferente.

A biodisponibilidade dos polifenóis também pode ser limitada pela matriz que os contém, por outros nutrientes que possam interferir e diversos factores da fisiologia humana, tais como o pH do estômago e intestino e a composição da microflora intestinal (Bravo, 1998). Em particular, no caso do vinho, tem sido relatado que o etanol pode ajudar a aumentar a biodisponibilidade dos polifenóis *in vivo* por aumentar a sua solubilidade (Faria, 2000; Horst & Lajolo, 2007; Mateus, 2009).

No processo de metabolização a dificuldade está também inerente ao tempo que os compostos fenólicos e os seus metabolitos permanecem no organismo do qual dependerá o desempenho das suas acções biológicas. Em adição, os metabolitos que são encontrados no sangue, no órgão alvo ou como resultado da actividade digestiva e hepática, podem diferir das formas nativas em relação à actividade biológica apresentada (Horst & Lajolo, 2007).

Após a sua absorção, que difere em cada composto, os polifenóis têm diferentes destinos no organismo (Figura 2.2).

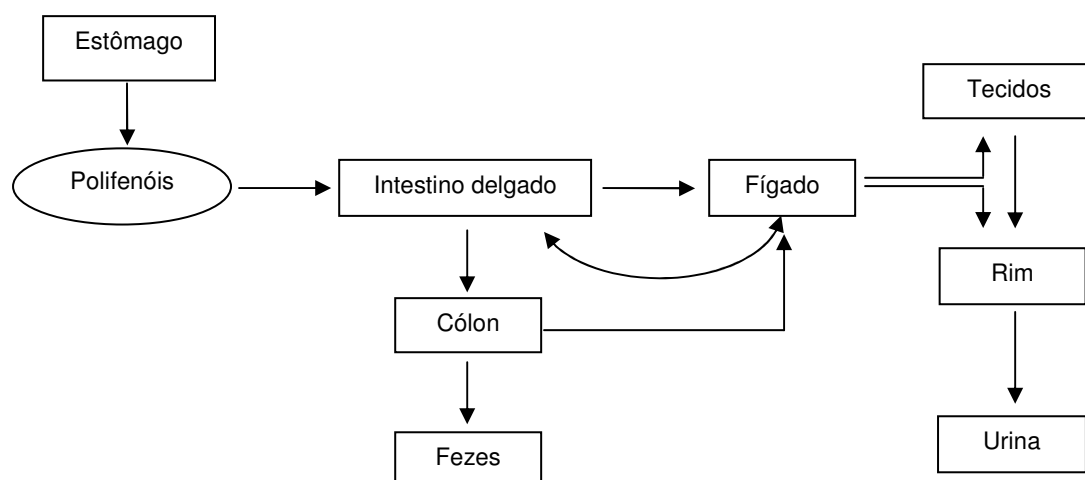


Figura 2.2 - Representação esquemática geral do destino dos polifenóis *in vivo* (Mateus, 2009).

Após a ingestão dos polifenóis, estes passam pelo estômago e chegam ao intestino onde podem ser absorvidos, no intestino delgado ou no cólon, ou não ser absorvidos sendo excretados pelas fezes. Apesar da absorção intestinal ter maior ênfase, já foi descrita a existência de absorção a nível gástrico, possivelmente por um mecanismo mediado pela bilitranslocase, um transportador aniônico orgânico da membrana plasmática expresso na mucosa gástrica (McDougall *et al.*, 2005).

Uma vez absorvidos, os compostos fenólicos chegam até ao fígado, podendo ser ou não metabolizados, e entrar na circulação sistémica. A grande maioria dos polifenóis é extensamente metabolizada, podendo sofrer reacções de fase I, como é o caso das reacções mediadas pelos citocromos P450, ou de fase II, podendo ser sulfatados, glucoronilados, metilados ou conjugados com a glutathione, dependendo estes tipos de conjugação de diversos factores, como a dose ingerida e a natureza do substrato (Behling *et al.*, 2004; Mateus, 2009). O fígado é o principal órgão envolvido na metabolização dos compostos fenólicos, embora esta também possa ocorrer noutros órgãos como os rins e a mucosa intestinal (Faria, 2000, Bravo, 1998). Uma parte substancial dos metabolitos produzidos no fígado são excretados na bÍlis e retornam ao lúmen intestinal onde podem ser novamente hidrolisados e reabsorvidos, ou podem ser directamente excretados pelas fezes.

Após a sua entrada na circulação sistémica, os polifenóis são transportados ligados às proteínas do plasma, principalmente à albumina, podendo ser distribuídos pelos tecidos, ou excretados por via renal. Estudos indicam que o etanol, provavelmente associado ao seu efeito diurético, possa desempenhar um papel na excreção de polifenóis (Horst & Lajolo, 2007).

A maioria dos polifenóis não é absorvida no intestino delgado, devido a encontrar-se sob forma de ésteres e glicosídeos ou polímeros que não podem ser absorvidos no intestino na sua forma nativa, pela sua hidrofiliidade (Behling *et al.*, 2004 & Queipo-Ortuño *et al.*, 2012). Os compostos fenólicos que podem ser absorvidos directamente pela mucosa do intestino delgado são os compostos mais simples, os ácidos fenólicos como o ácido hidroxicinâmico e os seus derivados (Bravo, 1998). Também os polifenóis não glicosilados podem ser absorvidos de forma directa (Horst & Lajolo, 2007), devido ao seu carácter lipofílico que facilita a passagem pela camada fosfolipídica da membrana celular (Behling *et al.*, 2004). Pode igualmente ocorrer a absorção de alguns compostos na forma glicosilada, quando existem mecanismos de absorção que permitam a sua absorção na forma conjugada, como é o caso específico da quercetina glicosilada (com ligação à glicose) (Bravo, 1998), que apresenta valores de absorção de 20 a 30% nos seres humanos (Rocha & Guerra, 2008).

Noutros polifenóis, para que ocorra a sua absorção é necessária a remoção do açúcar a que se encontram ligados, efectuada pelas enzimas glicosidases da flora intestinal, originando as formas agliconas correspondentes que podem ser posteriormente absorvidas por difusão passiva (Bravo, 1998; Behling *et al.*, 2004; Horst & Lajolo, 2007; Queipo-Ortuño *et al.*, 2012).

De acordo com Gonçalves (2007), os compostos fenólicos com um grau de polimerização inferior a três apresentam uma maior taxa de absorção. As proantocianidinas são, deste modo, pouco absorvidas, devido ao seu elevado peso molecular (Horst & Lajolo, 2007). Estes compostos podem aderir à parede celular (Faria, 2000) ou podem ser degradados pela microflora do cólon em ácidos fenólicos, de baixo peso molecular podendo então ser absorvidos (Faria, 2000; Horst & Lajolo, 2007).

Segundo Behling e colaboradores (2004), a quercetina após a sua absorção no intestino é excretada pela biliar e pela urina como glucoronídeo e sulfato conjugado, até 48 horas após a sua ingestão. Posteriormente, é degradada pelas bactérias intestinais em ácido fenólico, ácido 3-hidroxifenilacético e ácido 3,4-dihidroxifenilacético.

Um estudo realizado com ratos aos quais se administrou catequina, quercetina entre outros compostos fenólicos permitiu a identificação no plasma dos derivados conjugados e metilados tendo estes sido posteriormente excretados pela urina ou pela biliar (Bravo, 1998). Também Ebeler e colaboradores (2002) referem que no plasma os metabolitos da catequina são predominantemente glucoronídeos e sulfatos conjugados.

O resveratrol quando administrado por via oral é rapidamente absorvido, com taxas de absorção de pelo menos 70%, e metabolizado nos seus conjugados de glucoronídeo e sulfato. Também estes são encontrados posteriormente na urina e no plasma em pequenas concentrações, podendo voltar a entrar na circulação entero-hepática após a hidrólise intestinal (Brito, 2007; Schmatz, 2009; Moraes & Locatelli, 2010; Queipo-Ortuño *et al.*, 2012). Adicionalmente, o resveratrol parece também poder sofrer hidrogenação da dupla ligação alifática, provavelmente por acção de enzimas da microflora intestinal (Vitaglione *et al.*, 2005).

Num estudo realizado com 25 indivíduos tentou verificar-se a presença no plasma do resveratrol livre ou dos seus glucoronídeos, após o consumo moderado de vinho tinto (300 a

600 mL). Os resultados mostraram uma grande diferença inter-individual, sugerindo que a absorção deste composto possa ser bastante variável. O resveratrol livre foi encontrado em quantidades vestigiais após 30 minutos, enquanto que após períodos mais longos predominaram os glucoronídeos. Três a quatro horas após a ingestão de vinho nenhuma das formas de resveratrol foi detectada nas amostras analisadas o que pode ser explicado pela excreção dos metabolitos pela urina (Vitaglione *et al.*, 2005).

Após o consumo oral, algumas antocianinas podem ser absorvidas na forma glicosilada, indicando o envolvimento de receptores de transporte da glicose (Azevedo, 2007), distribuídas para o sangue e rapidamente eliminadas pela urina sob a forma intacta ou conjugada (McDougall *et al.*, 2005). No entanto, a biodisponibilidade da maioria destes compostos é limitada, podendo estas ser rapidamente degradadas pela microflora intestinal (Azevedo, 2007). Com efeito, quando comparados com as antocianinas a catequina e o resveratrol são mais biodisponíveis sendo, após a ingestão de vinho tinto, encontrados na circulação sanguínea sem serem degradados (Tian *et al.*, 2011). Pode acontecer que a limitada biodisponibilidade que é atribuída às antocianinas resulte do desconhecimento de alguns dos seus metabolitos (Manach *et al.*, 2005).

Utilizando um procedimento de digestão *in vitro* em que se simularam as condições físico-químicas e bioquímicas que ocorrem no tracto gastrointestinal superior foi possível verificar a estabilidade das antocianinas do vinho tinto no tracto gastrointestinal (McDougall *et al.*, 2005), existindo, assim, a hipótese destes compostos serem biodisponíveis e assim exercerem as suas propriedades *in vivo* (Azevedo, 2007).

2.2. Efeitos positivos do vinho e dos seus constituintes

2.2.1. Actividade antioxidante e anti-inflamatória

A cadeia respiratória mitocondrial é um dos mecanismos essenciais à manutenção e funcionamento do organismo humano, utilizando o oxigénio para a produção de energia, que ocorre devido à transferência de electrões. Este processo metabólico constitui a principal fonte endógena de formação de espécies reactivas de oxigénio (ROS), estimando-se que a maioria (95 a 98%) das ROS produzidas durante o metabolismo aeróbio derive deste processo (Migliore e Coppedè, 2009). Existem, contudo, outros processos metabólicos que podem levar à formação endógena de ROS e de que são exemplo a enzima xantina oxidase (Sousa, 2008), as ciclooxigenases, as lipooxigenases (Behling *et al.*, 2004) ou os citocromos P450 (Duarte, 2008).

As espécies de oxigénio incluem espécies radicalares, como, por exemplo, o radical anião superóxido, o radical hidroxilo ou o radical peróxilo, e espécies não radicalares, como por exemplo, o peróxido de hidrogénio, e são classificadas como reactivas devido à sua elevada capacidade para causar danos oxidativos nas células. Para fazer face às ROS os organismos possuem sistemas de defesa antioxidante. Contudo, a geração excessiva de ROS pode levar a

que seja excedida a capacidade antioxidante endógena do organismo, não havendo, por isso, a sua desactivação (Sousa, 2008).

Este desequilíbrio entre espécies oxidantes e antioxidantes, a que se chama *stress* oxidativo, é provocado por uma elevada produção de ROS, como resultado do metabolismo celular ou da exposição a factores exógenos, e leva a um desequilíbrio no estado de oxidação-redução dos sistemas biológicos, conduzindo a uma desregulação celular que pode desencadear a ocorrência de diversas modificações. Estas modificações são causadas pelo ataque das ROS em diversas estruturas celulares, como, por exemplo, as proteínas e os lípidos, desencadeando mudanças a nível estrutural e funcional e a destruição celular. Quando ocorrem no ácido desoxirribonucleico (DNA) as lesões oxidativas podem contribuir para a ocorrência de mutagénese e carcinogénese (Porto, 2002; Pandey & Rizvi, 2010). Desta forma, o *stress* oxidativo pode estar na origem do envelhecimento precoce e do desenvolvimento de diversas patologias que incluem o cancro, a diabetes, a hipertensão e problemas cardiovasculares (Bianchi & Antunes, 1999; Sousa, 2008; Pandey & Rizvi, 2010).

Nos alimentos também podem formar-se ROS devido à aplicação de processos como a irradiação, que origina a formação de radicais hidroxilo, e ao processamento especialmente de carnes, em que os iões de ferro, e talvez de cobre, são libertados e catalisam reacções que originam a produção dos mesmos radicais (Sousa, 2008).

Os danos para a saúde associados às condições de *stress* oxidativo levam a que seja necessário reforçar o combate aos ataques oxidativos dos radicais livres no organismo realizado pelos antioxidantes. Os antioxidantes podem ser classificados em dois grandes grupos: antioxidantes enzimáticos e antioxidantes não enzimáticos. Alguns destes são de produção endógena e incluem enzimas, como a superóxido dismutase, a glutathione peroxidase e a catalase, moléculas de baixo peso molecular, e co-factores enzimáticos. Muitos dos antioxidantes não enzimáticos são fornecidos pela alimentação, podendo ser divididos em várias classes, das quais os polifenóis constituem o maior grupo. As outras classes de antioxidantes alimentares incluem vitaminas, como o ácido ascórbico (vitamina C) ou o α -tocoferol (vitamina E), carotenóides, minerais e compostos organosulfurados (Ratnam *et al.*, 2006).

O consumo de compostos fenólicos, nomeadamente de flavonóides, na dieta habitual do ser humano constitui uma prevenção para o organismo. Estes compostos podem apresentar actividade antioxidante através de múltiplos mecanismos que incluem: a) a supressão da formação de ROS pela inibição de enzimas oxidativas (ciclooxigenase, lipooxigenase ou xantina oxidase); b) a quelação de iões metálicos pró-oxidantes, como os iões de ferro e cobre; c) o sequestro de ROS por cedência de electrões ou de átomos de hidrogénio; d) regulação positiva ou protecção das defesas antioxidantes por indução das enzimas de fase II da biotransformação, como, por exemplo, a glutathione transferase levando ao aumento da excreção de espécies oxidativas ou e) indução de enzimas antioxidantes (Behling *et al.*, 2004). Os flavonóides estão ainda envolvidos na regeneração das vitaminas antioxidantes, como, por

exemplo, a vitamina E (Porto, 2002; Gomes, 2003), a vitamina C e a vitamina A (Gomes, 2003; Araújo *et al.*, 2005).

A actividade antioxidante dos compostos fenólicos é influenciada pelas suas características estruturais, pela natureza do alvo biológico, pelas condições ambientais, como por exemplo o pH dos tecidos e pela dosagem ingerida, bem como a biodisponibilidade destes compostos no organismo (Behling *et al.*, 2004; Sousa, 2008).

Diversos trabalhos têm demonstrado actividade antioxidante em vinhos e têm correlacionado essa actividade com o seu conteúdo em compostos fenólicos (Katalanić *et al.*, 2004; Fernández-Pachon *et al.*, 2006; Kallithraka *et al.*, 2009, Vrček *et al.*, 2011; Rodrigues 2011). Rodrigues (2011) determinou a actividade antioxidante em 88 vinhos (63 tintos, 21 brancos e 4 rosés) produzidos entre 2006 e 2010 nas regiões de Lisboa, Tejo e Península de Setúbal, tendo concluído que os vinhos tintos apresentam uma capacidade antioxidante superior à dos vinhos rosés e estes à dos vinhos brancos. Estas diferenças foram essencialmente atribuídas aos diferentes métodos de vinificação. Neste trabalho também foi revelado, que no caso de vinhos tintos, a casta utilizada é muito importante, não sendo tão relevante nos vinhos brancos.

Um dos compostos fenólicos mais estudados tem sido o resveratrol devido à elevada capacidade antioxidante apresentada (Schmatz, 2009). Pandey & Rizvi (2010) realizaram um estudo com o objectivo de avaliar *in vitro* o efeito do resveratrol na protecção das lesões oxidativas das proteínas do plasma humano. O *stress* oxidativo foi induzido incubando-se o plasma com *tert*-butilhidroperóxido (t-BHP), o que acarretou um aumento significativo das proteínas carboniladas do plasma (PCO), dos produtos avançados de oxidação proteica (AOPPs), e da diminuição dos grupos sulfidrílo (-SH). A presença do resveratrol protegeu as proteínas da oxidação, efeito esse que foi dependente da concentração. Os grupos sulfidrílo das proteínas desempenham uma importante função nas reacções antioxidantes, sendo a diminuição destes grupos relatada em diversas doenças como o envelhecimento e a diabetes (Pandey & Rizvi, 2010). Assim, o tratamento com resveratrol conferiu uma protecção significativa contra os efeitos oxidativos do t-BHP levando a uma diminuição dos teores de AOPPs (Figura 2.3A), de PCO (Figura 2.3B) e aumentando os grupos -SH (Figura 2.3C).

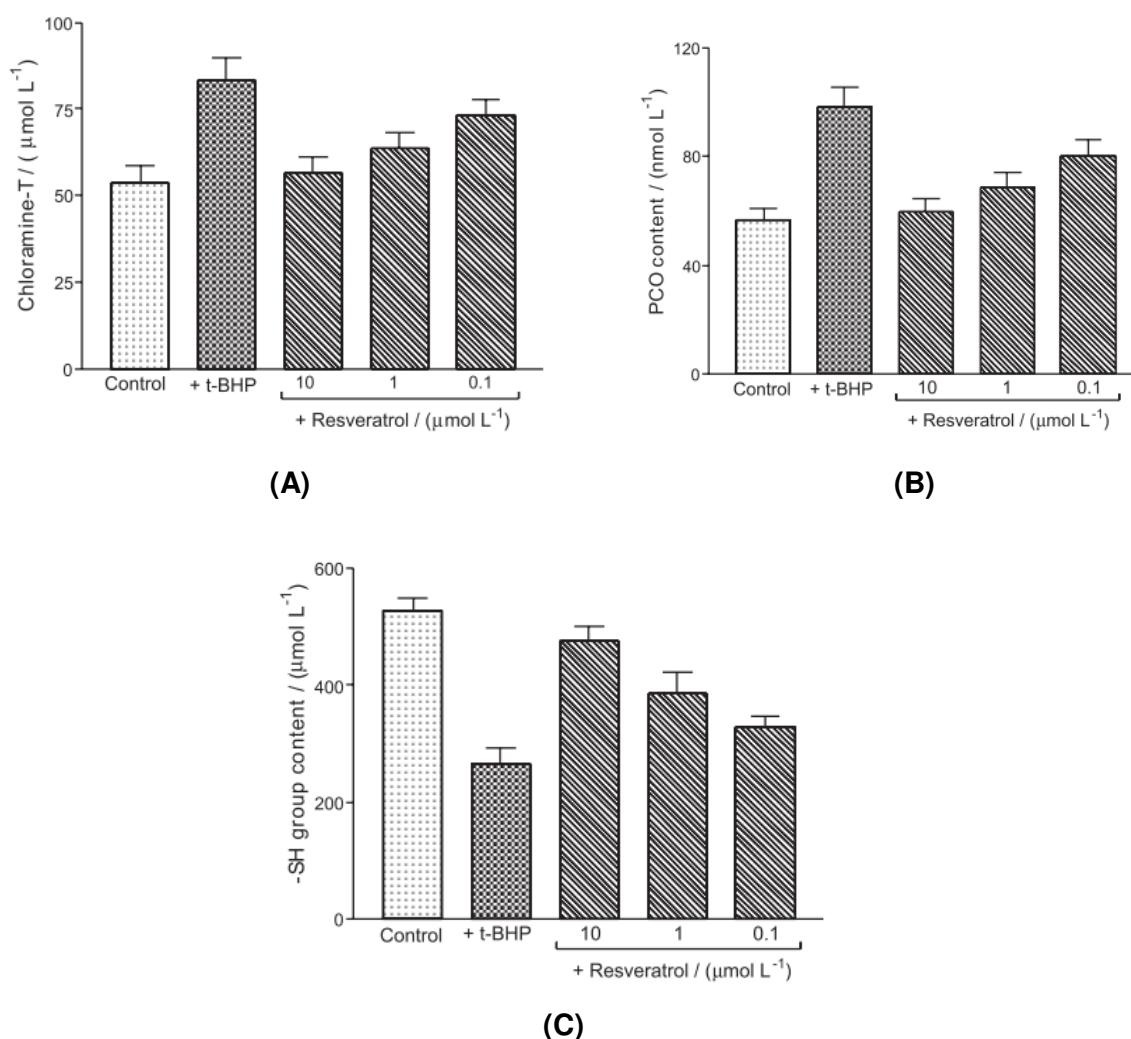


Figura 2.3 - Efeito do resveratrol na protecção das lesões oxidativas em proteínas para as diferentes amostras: controlo, incubação com t-BHP, e com concentrações diferentes de resveratrol. **(A)** Concentração de AOPPs expressa em cloramina-T ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) **(B)** Concentração de PCO expressa em nmol.L^{-1} **(C)** Concentração dos grupos -SH expressa em $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (Pandey & Rizvi, 2010).

Outro estudo que demonstra a acção antioxidante dos flavonóides do vinho foi realizado por Porto (2002) com 3-flavonóis sintetizados ou extraídos de grainhas de uva, purificados e obtidos como unidades monoméricas, diméricas e respectivos análogos e triméricas. O estudo da actividade antioxidante destes compostos *in vitro* envolveu um modelo experimental constituído por lipoproteínas de baixa densidade (LDL) humanas submetidas a um processo de oxidação controlada. Os resultados obtidos estabeleceram uma relação na estrutura molecular das procianidinas diméricas e na sua acção antioxidante, sugerindo que o tipo de ligação interflavonóide estabelecida entre as unidades monoméricas exerce um efeito significativo na capacidade de neutralização dos radicais livres, e o grau de polimerização das procianidinas induz o aumento da sua capacidade antioxidante, apenas para os compostos constituídos pela mesma unidade monomérica, a epicatequina.

Adicionalmente, no mesmo estudo, foi avaliado o efeito antioxidante *in vivo* das catequinas e procianidinas oligoméricas de um extracto de grainhas, recorrendo à quantificação de uma substância indicadora do envelhecimento cerebral, a lipofuscina, depositada nos neurónios de ratos. Para tal foram-lhes administradas soluções aquosas e hidroalcoólicas com e sem polifenóis a diferentes grupos num período de seis meses. Concluiu-se que os polifenóis apenas exercem efeito preventivo face à acumulação de lipofuscina no cérebro quando administrados com etanol. Este facto pode ser devido ao etanol ingerido fragilizar as membranas das células do intestino e do cérebro facilitando a absorção dos polifenóis, ou os polifenóis actuarem somente quando existe um dano celular como o provocado pelo etanol. Outra explicação referida é a maior solubilidade apresentada pelos compostos fenólicos em álcool em relação à água, que pode facilitar a sua absorção no intestino e consequentemente a sua biodisponibilidade no organismo (Porto, 2002).

O processo inflamatório constitui uma tentativa de o organismo repor a sua homeostasia, removendo o estímulo lesivo e iniciando o processo que conduz à sua reparação. Este processo origina uma activação de mediadores da inflamação envolvidos na resposta inflamatória, despoitando sinais como a dor, os quais podem ser formados pela conversão do ácido araquidónico por acção da ciclooxigenase (COX) ou prostaglandina sintase (Sousa, 2008).

Esta enzima apresenta duas formas distintas, a COX-1 e a COX-2, em que a primeira está presente em tecidos normais enquanto a segunda se apresenta numa concentração baixa e que por vezes não é detectada exprimindo maior quantidade mediante a presença de estimulantes tumorais, sugerindo a sua relevância no cancro e em processos inflamatórios (Kummer & Coelho, 2002). Diversos trabalhos têm demonstrado a capacidade de diferentes polifenóis para inibirem estas enzimas, contribuindo, assim, para a diminuição do processo inflamatório desempenhando, deste modo, uma função protectora de uma diversidade de patologias nas quais a inflamação pode desempenhar um papel importante, tais como, por exemplo, a aterosclerose e o cancro (Leighton & Urquiaga, 2007; Sousa, 2008; Moraes & Locatelli, 2010). Entre os polifenóis que têm demonstrado actividade anti-inflamatória encontram-se o ácido cafeico e os seus ésteres (Sousa, 2008) e o resveratrol (Moraes & Locatelli, 2010)

Leighton & Urquiaga (2007) afirmam que não são apenas os polifenóis presentes no vinho que possuem uma acção anti-inflamatória, mas que também o próprio etanol possa ser responsável por diversas alterações anti-inflamatórias observadas após o consumo de vinho e de outras bebidas alcoólicas em doses moderadas.

2.2.2. Actividade cardioprotectora e protecção da aterosclerose

A doença cardiovascular está associada ao aumento do colesterol, das LDL, que tendem a depositar-se nas artérias, e dos triglicéridos. Nos diversos estudos realizados sobre o efeito do consumo de vinho nestes parâmetros sanguíneos constatou-se que esta bebida tinha um efeito benéfico. O consumo regular durante as refeições, principalmente de vinho tinto, contribui para

o aumento das lipoproteínas de alta densidade (HDL), que auxiliam na remoção da gordura depositada nas artérias, e a diminuição das LDL no sangue (Penna & Hecktheuer, 2004).

Um estudo *in vitro* realizado com dois vinhos brancos e tintos da Califórnia foi possível verificar uma inibição da oxidação das LDL entre 37% e 65%, no caso dos vinhos tintos, e entre 3% e 7%, no caso dos vinhos brancos, tendo estes resultados sido correlacionados com as diferenças na composição fenólica em ambos os tipos de vinho e atribuindo a estes compostos o papel de poderem prevenir a ocorrência de doenças cardiovasculares, devido ao seu efeito protector contra a oxidação das LDL (Shrikhande, 1999). A aterosclerose, definida como uma doença inflamatória crónica que envolve uma inter-relação complexa de elementos celulares circulantes e as células da parede arterial (Brito, 2007), ocorre quando as LDL são oxidadas e se tornam citotóxicas e aterogénicas (Araújo *et al.*, 2005; Rocha & Guerra, 2008), e os produtos da oxidação causam danos como a desagregação da parede interna dos vasos sanguíneos.

A acumulação excessiva dos lípidos oxidados e de elementos fibrosos nas grandes artérias gera células degeneradas, e a formação de placas iniciam o processo de desenvolvimento da aterosclerose. Consequentemente, as placas formadas podem originar calcificações que ao longo do tempo vão limitar a circulação sanguínea devido à formação de trombos ou coágulos sanguíneos (Brito, 2007; Rocha & Guerra, 2008), principal causa das doenças cardiovasculares (Porto, 2002).

A comparação do risco de desenvolvimento de doença cardiovascular entre os consumidores de vinho e os abstémicos permitiu concluir que o consumo moderado de vinho tem efeitos cardioprotectores (Lorimier, 2000; Daluz & Coimbra, 2001; Andrade & Oliveira, 2009; Ribeiro, 2009). Lorimier (2000) analisando os dados da publicação científica concluiu que o consumo moderado de álcool pode reduzir entre 20 e 50% a incidência de doenças cardiovasculares e de morte causadas por estas, em relação aos abstémicos ou consumidores de quantidades elevadas tanto em homens como em mulheres.

A comparação do efeito de vinhos tintos e brancos sobre o colesterol total, HDL, LDL, e triglicéridos envolveu 29 indivíduos com idades compreendidas entre os 20 e 54 anos, saudáveis e com uma alimentação variável. Este estudo permitiu verificar que a ingestão de vinho melhora algumas das fracções lipídicas. Assim, verificou-se um aumento significativo do colesterol HDL e diminuição parcial das LDL nos grupos que consumiram vinho tinto e branco, sendo que este efeito foi atribuído aos polifenóis existente nesta bebida (Silva & Salvini, 2009). Outros trabalhos referem igualmente que o álcool aumenta os níveis de colesterol HDL, pois age no fígado e eleva a síntese de apolipoproteína bem como a actividade da lipase lipoproteica, que aumenta a formação deste tipo de colesterol (Faria, 2000; Andrade, 2006). Contudo, as taxas de triglicéridos aumentaram em alguns casos, decorrente do teor alcoólico que influencia o aumento das fracções destes lípidos, tornando o álcool desaconselhado para indivíduos com hipertrigliceridemia (causada pelo aumento dos triglicéridos no sangue).

Jimenez e colaboradores (2012) realizaram um estudo somente com mulheres dos 33 aos 55 anos, de modo a analisar a associação entre o consumo de álcool e o risco de acidente vascular cerebral (AVC) isquémico ou hemorrágico. Consideraram factores específicos do

consumo de álcool, com uma análise detalhada de antigas consumidoras e abstinências utilizando informações actualizadas sobre consumo de álcool ao longo do tempo de vida. Neste estudo observou-se que o consumo baixo, de 0 a 4,9 g/dia, e o moderado, de 5 a 14,9 g/dia, estão associados a baixo risco comparado com as abstinências, enquanto o consumo de 30 a 45 g/dia não aumenta muito o risco desta patologia. As antigas consumidoras também não apresentaram um risco elevado em comparação com as abstinências durante a sua vida. Em concordância com os outros estudos referidos, para quantidades elevadas foi observado um aumento do risco de AVC, tal como verificado na curva-padrão (Figura 2.1).

Dos vários polifenóis presentes no vinho, o resveratrol tem sido apontado como um dos que confere maior protecção cardiovascular. Este composto, mesmo em baixas concentrações demonstrou inibir, *in vitro*, a oxidação das LDL e, *in vivo*, a deposição do colesterol e dos triglicéridos no fígado de ratos, bem como a síntese destes últimos (Fernández-Mar *et al.*, 2012).

Para além do resveratrol, também a catequina, a quercetina e a epicatequina têm demonstrado exercer efeitos protectores, reduzindo significativamente o desenvolvimento da aterosclerose. Isto ocorre porque além da inibição da oxidação das LDL e da agregação plaquetária, diminuem a concentração do fibrinogénio e aumentam a actividade de mecanismos que dificultam a coagulação sanguínea e, conseqüentemente, reduzem os riscos de problemas cardiovasculares (Rocha & Guerra, 2008; Moraes & Locatelli, 2010).

Os polifenóis apresentam capacidade de alterar o metabolismo das prostaglandinas, através da inibição da actividade da ciclooxigenase e da lipooxigenase sobre as plaquetas e os macrófagos, conduzindo a uma inibição da agregação plaquetária e, desta forma, reduzindo as tendências trombóticas sendo este efeito potenciado pelo álcool (Faria, 2000; Araújo *et al.*, 2005). Também este efeito no sistema de coagulação só se encontra documentado para quantidades moderadas de álcool (Lorimier, 2000; Daluz & Coimbra, 2001).

Outro estudo realizado por Blanco-Colio e colaboradores (2000), teve o intuito de examinar o efeito do vinho tinto na activação do factor de transcrição nuclear NF-κB. Este factor de transcrição eucariota desempenha um importante papel nos processos inflamatórios, na resposta autoimune, no controlo da proliferação celular e da apoptose ao regular a expressão dos genes envolvidos nestes processos. Este factor de transcrição tem sido, igualmente, implicado na etiologia da aterosclerose. O estudo envolveu 16 voluntários que ingeriram durante 3 dias um pequeno-almoço com elevada gordura, e em cada ocasião foram administradas diferentes doses de vinho. Foi examinado o perfil lipídico e a activação do factor NF-κB em amostras de sangue antes e 3, 6 e 9 horas após o consumo de vinho. O pequeno-almoço enriquecido em gordura aumentou o nível de triglicéridos do sangue e o consumo simultâneo de vinho e gordura potenciou este aumento, incrementando a concentração em lipoproteínas de muito baixa densidade. Este perfil pós-prandial das lipoproteínas está correlacionado com a activação do factor NF-κB que foi evitada pela ingestão de vinho tinto. A ingestão de vodka, uma outra forma de álcool, não impediu a activação deste factor de transcrição. Desta forma, o consumo moderado de vinho evitou a activação do factor NF-κB,

confirmando, mais uma vez, o efeito benéfico desta bebida sobre as doenças cardiovasculares (Blanco-Colio *et al.*, 2000).

O endotélio vascular é um dos principais órgãos responsáveis pela síntese de substâncias envolvidas na manutenção do tônus vascular e da homeostasia, tais como substâncias vasodilatadoras, antiproliferativas, antiagregantes plaquetárias e substâncias vasoconstritoras, promotoras do crescimento celular e activadoras plaquetárias. O óxido nítrico é um potente vasodilatador, sintetizado pelo endotélio devido à estimulação da acetilcolina, que para além desta propriedade, inibe a agregação plaquetária e é antiaterogénico, enquanto a endotelina é um importante vasoconstritor também produzido pelas células endoteliais (Mansur, 1999; Batlouni, 2001; Brito, 2007).

O funcionamento eficaz dos reguladores de vasodilatação e vasoconstrição são fundamentais para um endotélio íntegro e um equilíbrio vascular, caso contrário inicia-se o processo inflamatório, com perda dos efeitos vasodilatadores e antitrombóticos mediados pelo óxido nítrico e o aumento dos vasoconstritores. Este processo desencadeia a disfunção endotelial, presente em indivíduos hipertensos e hipercolesterémicos, e que contribui também para a aterosclerose (Mansur, 1999; Andrade, 2006; Leighton & Urquiaga, 2007).

A disfunção endotelial expressa-se em diversas patologias metabólicas e cardiovasculares mas pode ser atenuada com o fornecimento de óxido nítrico pelo aumento das sintases endoteliais do óxido nítrico (eNOS) que o produzem. Após o consumo de vinho observa-se uma inibição da endotelina-1 e efeitos na produção das eNOS correlacionando-se esses efeitos com o teor em compostos fenólicos. Em estudos laboratoriais o etanol tem mostrado poder estimular a modulação da função endotelial, aumentando os níveis de óxido nítrico derivados da elevada expressão das eNOS (Andrade, 2006; Leighton & Urquiaga, 2007).

Um estudo em que se avaliou o efeito do consumo moderado de vinho sobre a função endotelial de indivíduos sem problemas ou limitações (controlo), hipertensos e hipercolesterémicos permitiu verificar uma melhoria na função endotelial dos doentes hipercolesterémicos, mas não nos hipertensos ou no controlo, sugerindo diferentes mecanismos na regulação desta função (Andrade, 2006). Esta conclusão corrobora outros estudos relatados por este autor, não existindo dados na melhoria da função endotelial nos pacientes hipertensos. A confirmação da acção benéfica do vinho na função endotelial dos pacientes hipercolesterémicos foi conseguida através da reavaliação desta função após 15 dias de suspensão do consumo de vinho, ao se observar que a privação desta bebida levava ao retorno da disfunção endotelial nestes pacientes (Andrade, 2006).

O objectivo de outro estudo recente foi investigar os efeitos de fracções não alcoólicas de cinco amostras diferentes de vinhos sobre a síntese de óxido nítrico, através da expressão da sintase endotelial do óxido nítrico em células humanas. Foi observado que todas as fracções estudadas aumentaram a síntese de óxido nítrico, embora com diferentes potências. O aumento na produção deste vasodilatador foi alcançado somente em doses moderadas, tal como já mencionado noutros estudos, e os polifenóis que demonstraram maior responsabilidade pela activação da enzima foram o resveratrol, a epicatequina, o ácido

siríntrico, o ácido elágico e a malvidina. Este estudo permitiu confirmar que alguns dos compostos presentes nos vinhos, que não o álcool, aumentam a produção de óxido nítrico nas células endoteliais (Simoncini *et al.*, 2011). Também as antocianinas têm demonstrado conseguir diminuir a produção da endotelina-1 e aumentar a actividade da eNOS melhorando, similarmemente, a função endotelial (Azevedo, 2007).

Mudnic e colaboradores (2010), também evidenciaram a partir de um estudo com diversos ácidos fenólicos do vinho a sua actividade vasodilatadora. Esta acção está relacionada com o efeito antioxidante destes compostos e dependente do número e posição dos grupos hidroxilo no anel aromático, aumentando com o aumento destes grupos.

A hipertensão arterial é um dos importantes factores de risco de doenças cardiovasculares como o enfarte do miocárdio ou o AVC. Os doentes hipertensos ao apresentarem disfunção endotelial têm uma redução da vasodilatação relacionada, tal como referido, pela diminuição do óxido nítrico, devido provavelmente à redução na sua síntese (Mansur, 1999). O vinho demonstrou, que quando consumido em doses moderadas, pode diminuir a pressão arterial sendo esta diminuição mais significativa em mulheres do que em homens, embora não tenha sido proposto um mecanismo biológico para esta redução (Daluz & Coimbra, 2001; Andrade & Oliveira, 2009).

O óxido nítrico pode reagir com o radical anião superóxido formando o anião peroxinitrito (ONOO^-), o qual constitui uma espécie reactiva de oxigénio e de azoto com fortes propriedades oxidantes e nitrantes, sendo por isso um importante mediador das modificações oxidativas das LDL (Azevedo, 2007). Esta reacção consome o óxido nítrico diminuindo, assim, a sua biodisponibilidade no endotélio e o seu efeito vasodilatador (Batlouni, 2001).

Para estudar o efeito protector do resveratrol contra as lesões mediadas pelo peroxinitrito Brito (2007) efectuou uma pré- incubação *in vitro*, durante 14 horas, de células endoteliais da aorta bovina com concentrações diferentes de resveratrol (1 a 50 μM), e, subsequentemente, sujeitou-as a um tratamento com peroxinitrito (500 μM). Os resultados deste estudo permitiram observar, com excepção da dose mais baixa, que em todas as doses de resveratrol utilizadas se verificou que, este composto, protegeu as células significativamente dos danos mediados pelo peroxinitrito, prevenindo a sua apoptose (Figura 2.4). Um dos mecanismos constatados foi o aumento dos níveis intracelulares da glutathione, um captador de peroxinitrito, que, deste modo, contribui para a sua desintoxicação, e que pode ser induzido pelo resveratrol. Porém outros mecanismos podem contribuir para o efeito citoprotector do resveratrol, uma vez que em concentrações mais baixas a protecção não foi associada ao aumento da glutathione (Brito, 2007).

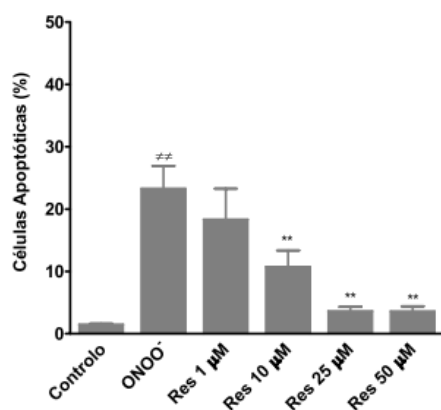


Figura 2.4 - Percentagem de células apoptóticas no controlo (sem peroxinitrito e sem resveratrol), em células tratadas apenas com peroxinitrito (ONOO⁻) e pré-incubadas com diferentes concentrações de resveratrol antes de serem tratadas com o peroxinitrito (Brito, 2007).

2.2.3. Actividade antimicrobiana

O organismo humano possui, sobretudo no seu sistema digestivo, uma extensa flora microbiana que desempenha um papel essencial no bom funcionamento deste sistema. No intestino vivem bactérias que constituem a flora intestinal e que auxiliam no metabolismo de alguns nutrientes, de modo a serem digeridos e absorvidos pelo organismo. No entanto, devido a diversos factores, este ecossistema bacteriano é susceptível a mudanças que no organismo desencadeiam distúrbios metabólicos.

O vinho tem sido abordado como um possível agente antimicrobiano que pode auxiliar o organismo no combate a agentes patogénicos externos. Os polifenóis presentes nesta bebida parecem ser capazes de afectar a viabilidade de variados bolores, leveduras, alguns vírus e inúmeras bactérias (Porto, 2002).

A bactéria *Helicobacter pylori*, é uma bactéria que muito frequentemente se aloja na mucosa do estômago e do duodeno e que está associada a diversas patologias, como, por exemplo, as úlceras pépticas, alguns tipos de gastrite, adenocarcinoma gástrico e outras patologias do estômago e duodeno, apesar da maioria dos humanos infectados nunca chegar a manifestar qualquer tipo de sintomatologia e/ou complicação relacionada com esta bactéria. A *Helicobacter pylori* produz níveis elevados de urease, a qual converte a ureia em amónia, produzindo um ambiente alcalino que permite a sobrevivência da bactéria no ambiente ácido do estômago, facilitando a colonização da mucosa gástrica (Paulo *et al.*, 2011).

Diversos estudos epidemiológicos indicam que o álcool não está associado com o desenvolvimento de úlceras pépticas resultantes da infecção provocada pela *Helicobacter pylori* (Lorimier, 2000). De facto, estes estudos apontam no sentido da probabilidade de ocorrência de uma infecção por esta bactéria nos indivíduos que ingerem 50-75 g de álcool por semana seja um terço da dos indivíduos ou que não ingeriram álcool ou ingeriram menos quantidade (Lorimier, 2000).

Um dos compostos presentes no vinho e que pode estar envolvido nesta actividade antibacteriana é o resveratrol. Com efeito, ensaios *in vitro* mostraram que o resveratrol proveniente de vinho tinto inibiu o crescimento diversas estirpes de *Helicobacter pylori*, com

concentrações mínimas de inibição entre 25 e 100 µg/mL (Paulo *et al.*, 2011). Os mesmos autores demonstraram ainda, que tanto o resveratrol como o próprio vinho tinto, conseguiram inibir a actividade da urease produzida por diferentes estirpes desta bactéria, sendo a actividade inibitória do vinho superior à actividade inibitória do resveratrol quando testado isoladamente em concentrações idênticas às existentes nas amostras de vinho utilizadas. Desta forma, é provável que outros constituintes do vinho, tais como, o álcool, as antocianinas, os taninos ou os ácidos orgânicos, possam também contribuir para esta inibição ou possam potenciar os efeitos do resveratrol (Paulo *et al.*, 2011). Este trabalho, para além de confirmar a actividade antimicrobiana do resveratrol, sugere que ele possa ter um potencial terapêutico numa abordagem alternativa ao tratamento da infecção com *Helicobacter pylori* recorrendo a antibióticos.

O facto de que a actividade antimicrobiana do vinho não se poder correlacionar apenas com o teor em compostos fenólicos e, em particular, com os teores em resveratrol já tinha sido anteriormente descrito por outros autores. Boban e colaboradores (2010) mostraram que a actividade antimicrobiana contra as bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, do vinho era superior à mesma actividade adquirida com o extracto polifenólico obtido a partir do vinho que por sua vez era superior à do mesmo vinho após remoção do etanol ou à do etanol isolado.

Outros compostos presentes no vinho têm demonstrado possuir actividade antimicrobiana contra diversas bactérias. Assim, o ácido p-cumárico mostrou ser um antagonista de bactérias Gram-positivas como o *Staphylococcus* e o *Streptococcus*, enquanto outros polifenóis têm demonstrado inibir o crescimento de bactérias Gram-negativas, como, por exemplo, a *Escherichia coli*, *Shigella*, *Proteus* e *Vibrio* (Jackson, 2000). Os polifenóis, nomeadamente os flavanóis monoméricos ou condensados conseguem inibir o crescimento de algumas bactérias devido à sua ligação com a membrana destes organismos. Desta forma, as diferenças nas estruturas da parede celular podem explicar o facto das bactérias Gram-positivas serem mais sensíveis a estes compostos que as Gram-negativas (Queipo-Ortuño *et al.*, 2012). Também os ácidos orgânicos em conjunto com o etanol parecem inibir o crescimento da *Campylobacter jejuni* enquanto que a combinação destes ácidos com o etanol e com o pH mostraram forte actividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus* (Boban *et al.*, 2010). A modificação das antocianinas ao longo da fermentação parece contribuir para o aumento da sua toxicidade face a vírus e a bactérias (Jackson, 2000).

Um estudo muito recente, e o primeiro destes ensaios realizado *in vivo*, teve o propósito de avaliar o possível efeito pré-biótico dos polifenóis do vinho tinto na flora intestinal humana, ou seja, avaliar a capacidade de modulação que estes compostos podem ter de modo a influenciar um crescimento bacteriano específico que seja capaz de produzir efeitos benéficos (Queipo-Ortuño *et al.*, 2012). Neste estudo os participantes (10 homens saudáveis), após 15 dias sem ingestão de álcool, consumiram, em diferentes períodos, vinho tinto desalcoholizado, vinho tinto e gin. Foi observado que em todos os casos houve mudanças significativas na microbiota fecal

dos participantes, e que os polifenóis do vinho tinto mostraram capacidade em inibir o crescimento de bactérias prejudiciais como algumas estirpes de *Clostridium*.

Além disto, foi também observado no mesmo estudo o potencial crescimento de bactérias próbióticas como a *Bifidobacteria*, implicadas na redução de um biomarcador inflamatório (Proteína C reactiva) e da concentração de colesterol, promovendo deste modo benefícios para o hospedeiro. O aumento significativo da *Proteobacteria* observado no período de consumo de vinho tinto diminuiu a concentração de ácido úrico devido a este composto poder ser degradado por esta bactéria (Queipo-Ortuño *et al.*, 2012).

2.2.4. Actividade anticancerígena

O cancro pode ser considerado uma doença genética causada pela ocorrência de mutações nos genes envolvidos na proliferação e morte celular e compreende as etapas de iniciação, promoção e progressão. O dano causado no DNA pode resultar de processos endógenos, como é o caso das lesões oxidativas causadas pelas ROS endógenas, ou por interações com agentes exógenos (Behling *et al.*, 2004).

Foram atribuídos ao vinho, pela sua composição fenólica, potenciais efeitos anticancerígenos, decorrentes dos efeitos antimutagénicos, antioxidantes, anti-inflamatórios e de inibição da proliferação de células neoplásicas atribuídos a estes compostos.

Diversos trabalhos têm demonstrado que os polifenóis apresentam capacidade antimutagénica que pode manifestar-se através de diferentes mecanismos. Assim, diversos polifenóis têm mostrado inibir a absorção de mutagénicos como o benzo[a]pireno ou inibir a formação gástrica de N-nitrosaminas, podendo, por isso, o estômago ser o principal local onde os polifenóis previnem a cancerigénese. Mais ainda, certos polifenóis parecem influenciar a actividade de enzimas de reparação do DNA através da modulação da expressão dos seus genes, inibir a acção de enzimas oxidativas e desactivar espécies oxidativas. Além do já referido, alguns flavonóides, e outros compostos fenólicos, obtidos através da dieta podem inibir citocromos P450 específicos envolvidos na bioactivação de cancerígenos e proteger contra a mutagénese através deste mecanismo (Ferguson, 2001). Também a actividade antimicrobiana destes compostos lhes pode conferir uma acção anticancerígena, como é, por exemplo o caso da inibição do desenvolvimento da bactéria *Helicobacter pylori* cuja infecção está associada ao desenvolvimento do adenocarcinoma gástrico (Behling *et al.*, 2004).

Os compostos fenólicos podem ainda interagir com a molécula do DNA, protegendo-a da acção de agentes agressores capazes de originar lesões ou a clivagem desta molécula, podem interagir com as proteínas do epitélio do tracto digestivo superior, formando uma camada protectora, e também com as enzimas envolvidas no processo tumoral, inactivando-as (Porto, 2002). Pela capacidade que estes compostos apresentam para complexarem iões de alguns metais, podem impedir a sua actuação como co-factores de enzimas intervenientes no desenvolvimento tumoral (Porto, 2002), apresentando também um contributo na activação de sistemas enzimáticos envolvidos na desintoxicação de xenobióticos (Faria, 2000).

Alguns estudos mostraram que o consumo de um copo de vinho tinto pode diminuir para metade o risco de cancro na próstata, parecendo esta protecção mais forte nas formas mais agressivas desta patologia (Fernández-Mar *et al.*, 2012). Os extractos polifenólicos preparados a partir dos vinhos tinto e branco, bem como o resveratrol isoladamente demonstraram actividade citotóxica mais forte em linhas celulares tumorais humanas de adenocarcinoma cervical (células HeLa) e carcinoma da mama (células MDA-MB-453) do que em linhas celulares de adenocarcinoma da mama (células MDA-MB-361) ou o em células normais do sangue periférico (Matić *et al.*, 2010). Neste estudo foi ainda possível observar que o extracto de polifenóis do vinho branco exibiu uma acção antiproliferativa significativamente maior nas células cancerígenas estudadas, do que os extractos preparados a partir do vinho tinto (Matić *et al.*, 2010).

As catequinas convertem as ROS em compostos inactivos de baixa energia auxiliando na protecção contra o aparecimento de cancro e a epigallocatequina parece prevenir a promoção do cancro da pele foto induzido (Behling *et al.*, 2004). As procianidinas parecem igualmente exibir uma acção protectora face ao desenvolvimento de tumores e mutações (Porto, 2002).

Moraes & Locatelli, (2010) e Fernández-Mar e colaboradores, (2012) referem que o resveratrol possui uma acção antitumoral devido ao aumento da apoptose e inibição da proliferação de células epiteliais malignas da mama, células da próstata e do cólon. Quando administrado em pequenas doses e associado a agentes quimioterápicos, reduz os efeitos tóxicos destes sobre as células melhorando a eficácia do tratamento, (Fernández-Mar *et al.*, 2012) enquanto o seu efeito anticarcinogénico foi comprovado *in vitro* para doses que rondam os 5 a 100 mM. Este composto é responsável por actividades anticancerígenas pois bloqueia a evolução de processos neoplásicos e actua nos três estágios do cancro (iniciação, promoção e progressão) (Schmatz, 2009, Fernández-Mar *et al.*, 2012). Este efeito parece estar ligado às propriedades anti-inflamatórias que permitem ao organismo impedir a produção das prostaglandinas, relacionadas com lesões pré-cancerosas (Jackson, 2000; Penna & Hecktheuer, 2004).

A catequina quando incorporada, em diferentes concentrações, de 0 a 8 mmol de catequina/kg de alimento, numa dieta padrão à base de aminoácidos, atrasou significativamente, e de uma forma dependente da dose, o início do aparecimento de tumores em ratos transgénicos que possuíam uma elevada disposição para desenvolverem tumores espontaneamente, isto é, sem necessidade de exposição a agentes cancerígenos (Ebeler *et al.*, 2002). Este resultado levou os autores a concluir que o consumo de polifenóis, e, em particular, o consumo de catequina, pode desempenhar um papel importante na prevenção do aparecimento do cancro.

Foi demonstrada a existência de uma relação inversa entre o consumo de flavonóides e a incidência de cancro do pulmão, tanto em homens como em mulheres acima dos 20 anos, representando a quercetina cerca de 95% dos flavonóides consumidos (Porto, 2002; Behling *et al.*, 2004). Para além da quercetina, também o resveratrol parece poder diminuir o risco de cancro do pulmão ao reduzir o mecanismo inflamatório dos alvéolos, daí os fumadores que

consomem vinho tinto poderem estar mais protegidos desta patologia (Moraes & Locatelli, 2010). Também o ácido elágico é descrito como sendo um composto efectivo na prevenção do desenvolvimento do cancro induzido pelas substâncias do tabaco (Bianchi & Antunes, 1999).

A quercetina por regular o ciclo celular, interagir com os locais de ligação do estrogénio e induzir a apoptose de células tumorais pode tornar-se um potente composto antitumoral. A quercetina apresenta actividade antiproliferativa em linhas celulares tumorais humanas e também é referida como um agente preventivo do melanoma, pois foi observado que bloqueia a promoção deste tumor em animais de laboratório (Behling *et al.*, 2004).

Porém o vinho exhibe efeitos antagónicos, se por um lado os seus constituintes fenólicos actuam como agentes protectores, por outro lado, o seu conteúdo alcoólico é responsável por um efeito pro-carcinogénico, particularmente ao nível do tracto digestivo superior, e, por isso, os efeitos benéficos só podem ser associados ao consumo moderado desta bebida (Porto, 2002). Contudo, o risco de desenvolvimento de cancro esofágico e gástrico é mais elevado com o consumo de bebidas espirituosas ou de cerveja do que com a ingestão de vinho (Lorimier, 2000; Porto, 2002). Este facto pode ser explicado pelo baixo teor de nitrosaminas que o vinho apresenta quando comparado com a cerveja, e pela presença de agentes protectores como as procianidinas que podem atenuar o efeito nocivo do álcool (Faria, 2000; Lorimier, 2000; Porto, 2002).

2.2.5. Actividade neuroprotectora

Devido à elevada taxa de consumo de oxigénio no cérebro, e, especialmente, aos baixos níveis de enzimas antioxidantes aí existentes, este órgão é particularmente susceptível a danos provocados por espécies reactivas de oxigénio (Souza *et al.*, 2006). As lesões oxidativas no cérebro têm vindo a ser implicados na etiologia de muitas doenças, salientando-se doenças degenerativas do sistema nervoso, como as doenças de Parkinson ou Alzheimer.

Estudos epidemiológicos têm vindo a evidenciar a redução do desenvolvimento de demências, como o Alzheimer, com o consumo moderado de vinho tinto (Ruitenberg *et al.*, 2002; Rocha & Guerra, 2008; Andrade & Oliveira, 2009). Esta associação tem sido atribuída a diferentes factores, que incluem, a neutralização das ROS e a modificação do perfil lipídico resultante da acção dos polifenóis e, em particular, dos flavonóides presentes no vinho e o possível efeito exercido pelo álcool na libertação da acetilcolina, substância envolvida nos mecanismos da aprendizagem e memória (Rocha & Guerra, 2008; Andrade & Oliveira, 2009). Com efeito, ensaios realizados em ratos mostraram que o consumo de etanol em baixas concentrações (0,8 g/kg) estimula a libertação de acetilcolina no cérebro, enquanto que o seu consumo em concentrações mais elevadas (2,4 g/kg) provoca uma inibição da libertação da acetilcolina (Ruitenberg *et al.*, 2002).

Também é referido por Lorimier (2000) que diversas publicações demonstram que a função cognitiva é melhor quando é consumida uma quantidade moderada de álcool. Um estudo prospectivo envolvendo 3 767 indivíduos com mais de 65 anos e residentes em Bordéus, França, revelou que consumidores moderados diminuíram notavelmente o risco de ocorrência

de Alzheimer comparado com abstémicos. Noutro estudo também documentado com 14 000 indivíduos de meia-idade foi observado um aumento da pontuação cognitiva em relação a abstémicos. Os diversos autores têm vindo a relacionar os resultados obtidos nestes ensaios com a actividade antioxidante do vinho tinto Lorimier (2000).

Outra evidência de que os compostos fenólicos, nomeadamente as proantocianidinas, podem desempenhar uma acção preventiva de doenças como o Alzheimer, é citada por Faria (2000). Este autor descreve que o alumínio, um mineral associado ao aumento do risco da doença de Alzheimer, tal como o ferro pode ligar-se aos taninos do vinho, diminuindo deste modo, a sua absorção e consequente biodisponibilidade no organismo.

O tremor essencial é uma desordem neurológica lentamente progressiva muito comum, caracterizada pela existência de um tremor rítmico e que pode manifestar-se em diversas zonas do corpo. As mulheres são mais propensas a desenvolver esta patologia, que não está limitada apenas aos idosos. Um estudo realizado com o objectivo de avaliar a associação entre o consumo de vinho e o tremor essencial foi realizado por pesquisadores italianos, com indivíduos que sofrem desta doença (38 homens e 45 mulheres, com idade média de 68 anos) e com indivíduos saudáveis (113 homens e 132 mulheres, com idade média de 68 anos). Este estudo permitiu concluir que o consumo de um a dois copos de vinho por dia reduzia o risco de tremor para 68%, e que com 3 copos o risco foi reduzido em 86%. De acordo com os autores deste estudo, os seus dados sugerem uma relação negativa entre o consumo moderado de vinho e o tremor essencial, sendo esta associação explicada pelo efeito antioxidante dos compostos presentes nesta bebida (Nicoletti *et al.*, 2011).

Diversos estudos têm demonstrado que o resveratrol devido à sua elevada solubilidade lipídica, tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e incorporar-se no tecido cerebral, onde pode desempenhar um efeito neuroprotector (Schmatz, 2009; Fernández-Mar *et al.*, 2012). Contudo, este mecanismo de protecção ainda não está definido, sendo atribuído, essencialmente, às suas propriedades antioxidantes (Assunção, 2003; Brito, 2007).

O efeito neuroprotector do vinho tinto e dos polifenóis nele presentes foi, igualmente, verificado com culturas de astrócitos *in vitro*. Assim, estas células apresentaram melhores índices de viabilidade celular sempre que foram incubadas com vinho tinto da casta Merlot, ou com os seus diversos polifenóis isoladamente, antes de serem expostas a um indutor de *stress* oxidativo (Martín *et al.*, 2011). Quando as células foram previamente tratadas com os polifenóis presentes no vinho foi possível verificar uma diminuição de espécies reactivas de oxigénio e um aumento da actividade e da expressão das enzimas antioxidantes (Martín *et al.*, 2011). Os polifenóis mais abundantes nesta amostra de vinho foram a epicatequina, a catequina, a quercetina, as procianidinas e o ácido gálico, sendo que os que apresentaram maior efeito neuroprotector foram a quercetina e as procianidinas.

2.2.6. Actividade protectora renal

Ensaio realizados em ratos apontam no sentido do vinho poder exercer acções benéficas sobre o funcionamento renal. Assim, após a administração de um extracto de vinho a ratos

tratados com tacrolimus, foi possível observar a redução da nefrotoxicidade induzida por este composto (Silva *et al.*, 2011). O tacrolimus é um medicamento imunossupressor frequentemente utilizado no caso de transplante renal e a sua acção ocorre por meio de inibição da calcineurina (enzima que activa a proteína responsável pelo crescimento e diferenciação dos linfócitos). No entanto, um dos efeitos indesejáveis deste medicamento é o decréscimo da função renal, com aumento da creatinina, podendo ocorrer lesão renal aguda após o transplante (Silva *et al.*, 2011).

Os ratos utilizados no referido estudo (Silva *et al.*, 2011) foram distribuídos por 4 grupos, o grupo controlo (4 ratos que receberam solução de cloreto de sódio), o grupo FK (7 ratos que receberam tacrolimus), o grupo Vitis (7 ratos que receberam o extracto de vinho) e grupo FK+Vitis (7 ratos que receberam tacrolimus e extracto de vinho), sendo que todos os animais receberam estes produtos num período de 5 dias uma vez por dia. Os peróxidos, por serem considerados potenciais indicadores da formação de ROS ou por resultarem da sua acção, foram utilizados como marcadores indirectos de *stress* oxidativo. Perante os resultados expressos na tabela 2.1, os grupos controlo e Vitis não apresentaram variabilidade significativa quanto à função renal, sendo que no grupo FK se observou um aumento significativo de peróxidos urinários. Em contrapartida, os ratos do grupo FK+Vitis apresentaram função significativamente melhor, com valores mais baixos que os do grupo FK. A interferência benéfica na nefrotoxicidade do tacrolimus confirma a renoprotecção do extracto estudado, possivelmente devido ao sequestro de radicais livres, à inibição da peroxidação lipídica ou à actuação nessas duas vias (Moraes & Locatelli, 2010; Silva *et al.*, 2011).

Tabela 2.1 - Parâmetros da função renal e da excreção de peróxidos urinários nos grupos de ratos controlo, tratados com extracto de vinho (Vitis) tratados com tacrolimus (FK) e tratados com Tacrolimus e extracto de vinho (FK+Vitis) (Silva *et al.*, 2011).

Grupos	Fluxo urinário (mL/min)	Peróxidos urinários (nmol/g de creatinina)
Controlo	0,008±0,0002	0,6±0,02
Vitis	0,011±0,0002	0,6±0,01
FK	0,011±0,0004	4,2±0,26
FK+Vitis	0,011±0,0004	2,6±0,19

O vinho, ou os seus polifenóis têm demonstrado exercer outros efeitos benéficos sobre o funcionamento renal. Assim, o vinho reduz a cristalização do oxalato de cálcio, que conduz à formação de pedras nos rins, diminuindo, desta forma a sua incidência (Jackson, 2000).

Em ensaios com ratos, a quercetina exerceu um efeito protector devido às suas capacidades antioxidantes, nomeadamente às suas capacidades de sequestro de ROS e de quelação de ferro. Este composto, tem demonstrado exercer uma melhoria das defesas antioxidantes dos rins, exercendo deste modo, protecção contra a lesão isquémica e

reperusão renal, que limita a função do rim conduzindo à sua falência e morte celular, além de provocar uma diminuição da apoptose de células mensageiras (células musculares lisas localizadas na parede de pequenos vasos sanguíneos no glomérulo do rim) (Presti *et al.*, 2007). O resveratrol, em ensaios com ratos, mostrou, igualmente, melhorar significativamente quer a lipoperoxidação quer os danos histológicos provocados pela lesão isquémica e reperusão renal (Rodrigo & Rivera, 2002). A quercetina mostrou ainda conduzir a um aumento significativo da sobrevivência celular quando há falência renal induzida, sendo esse resultado dose-dependente, proteger as células renais da toxicidade e preservar a integridade histológica renal (Behling *et al.*, 2004).

Diversos estudos epidemiológicos apontam no sentido do consumo moderado de vinho poder ser benéfico em pacientes com doenças renais. Contudo, são necessários mais estudos clínicos que confirmem esta hipótese e que assegurem a ausência de outros efeitos desfavoráveis (Presti *et al.*, 2007).

2.2.7. Actividade noutras patologias

O consumo moderado de vinho tem sido associado a uma minimização dos riscos de desenvolvimento da diabetes do tipo II, devido ao efeito que esta bebida pode exercer sobre o metabolismo da glucose e dos níveis de insulina (Andrade & Oliveira, 2009). Vários dos polifenóis existentes no vinho têm demonstrado alguma acção protectora contra a diabetes. Assim, o resveratrol apresenta potencialidades para o tratamento da diabetes e da obesidade, uma vez que reduz a glucose do sangue em caso de hiperglicemia e não afecta os níveis de glucose em concentrações normais. O resveratrol também pode estimular a absorção de glucose independentemente da acção da insulina, melhorando o transporte deste açúcar. Na obesidade estudos relatam redução no peso corporal e da adiposidade (Moraes & Locatelli, 2010).

Alguns polifenóis têm demonstrado capacidade de se ligarem e formarem complexos com as enzimas envolvidas na digestão dos glúcidos causando, desta forma, uma redução da sua actividade. Esta diminuição traduz-se numa absorção mais lenta de moléculas de glucose, reduzindo, consequentemente, a resposta glicémica pós-prandial e evitando os picos glicémicos (Gomes, 2003). Assim, a inibição de glicosidases tem sido relacionada com o potencial dos polifenóis no controlo da diabetes. Os resultados de diversos estudos indicam que a ingestão de extractos de antocianinas poderá controlar o índice glicémico, por este processo (Gonçalves, 2007).

São, igualmente, atribuídas aos polifenóis propriedades hipocolesterolemicas. Este efeito poderá dever-se aos polifenóis promoverem um aumento da excreção fecal de lípidos, que poderá resultar da sua capacidade para inibirem a lipase pancreática, essencial para o metabolismo de lípidos na dieta (Gomes, 2003). Esta acção hipocolesterémica foi referida para o caso do resveratrol, pela sua contribuição na excreção de esteróides neutros e ácidos biliares nas fezes (Souza *et al.*, 2006).

A inibição da protease digestiva tripsina diminui o valor calórico e abranda a digestão de uma refeição, conduzindo a uma sensação de saciedade, podendo contribuir também para o efeito antiobesidade (Gonçalves, 2007).

A comparação do efeito inibitório da actividade da tripsina provocado por diferentes tipos de vinhos mostrou que o vinho do Porto apresentou maior capacidade de inibir esta enzima, seguido do vinho de mesa tinto (Tabela 2.2). Este resultado é concordante com o teor de polifenóis totais de cada um dos vinhos estudados, porém a diferença entre o teor e o factor de inibição não é proporcional, indicando que a quantidade de compostos não é o único factor a considerar. Esta inibição aumentou com o aumento da concentração de taninos e com o seu grau de polimerização, dependendo assim da sua complexidade estrutural (Gonçalves, 2007).

Tabela 2.2 - Factores de inibição (Fi) da actividade da tripsina e concentração fenólica total para diferentes tipos de vinho comercial (Gonçalves, 2007).

Vinhos comerciais	Factor de inibição (Fi) x 10 ³	Fenóis totais (g.L ⁻¹)*
Vinho de Mesa Branco	1,5 ± 0,4	0,015 ± 0,006
Vinho de Mesa Tinto	4,4 ± 0,7	1,80 ± 0,01
Vinho do Porto	13,7 ± 1,7	3,15 ± 0,02

* expresso em equivalentes de catequina

Numa fase experimental anterior foi verificada uma inibição de tripsina por parte de procianidinas oligoméricas de diferentes pesos moleculares (extraídas de grainhas de uva) e por taninos hidrolisáveis comerciais. Apesar do poder inibitório destes últimos ser superior, a sua presença é reduzida, apenas existindo nos vinhos pela sua adição (Gonçalves, 2007).

A síndrome metabólica caracteriza-se por um conjunto de alterações no metabolismo da glucose plasmática, obesidade, hipertensão e aumento dos triglicéridos e colesterol (dislipidemia), estando associada a diversas patologias como as doenças cardiovasculares, diabetes do tipo 2 e cancro (Ribeiro, 2009). Um estudo com 808 participantes, com idades compreendidas entre 55 e 80 anos, permitiu verificar a existência de uma redução do risco de desenvolver esta síndrome com o consumo moderado de vinho, resultando este efeito principalmente da redução na ocorrência de alterações nos níveis de triglicéridos, de colesterol e de glucose, tendo sido esta relação evidente nas mulheres (Ribeiro, 2009).

Foi, igualmente, descrita a existência de efeitos hepatoprotectores por parte da quercetina. A administração oral deste composto pode proteger o fígado contra a falência induzida por isquemia e reperfusão, devido à sua capacidade para melhorar a actividade antioxidativa hepática. A exposição à quercetina aumenta os níveis de albumina sérica e glutatona hepática e diminui os níveis hepáticos de malondialdeído, um produto da peroxidação lipídica, podendo,

assim, a quercetina ser utilizada na prevenção do desenvolvimento da fibrose hepática (Behling *et al.*, 2004).

Muito recentemente foi efectuado um estudo com ratos para avaliar o efeito do resveratrol sobre a função muscular esquelética e cardíaca. Os ratos foram divididos em 4 grupos aos quais foi administrada, durante 12 semanas, uma dieta controlada suplementada ou não com resveratrol, tendo sido sujeitos ou não a um programa de exercício físico progressivo (Dolinsky *et al.*, 2012). Quando comparado o grupo de treino com dieta não suplementada e o grupo de treino com dieta suplementada, observou-se um aumento da biogénese mitocondrial no músculo esquelético e da capacidade de oxidação dos ácidos gordos, que contribuem para o aumento da resistência física. Os autores concluíram então que o resveratrol melhora a resistência no treino através de alterações na função muscular esquelética e na estrutura e função cardíaca, para além da melhoria no metabolismo energético. Nesta perspectiva, o resveratrol pode ser utilizado como suplemento para aumentar a massa muscular e a resistência, sendo deste modo classificado como ergogénico (substância que melhora o rendimento do atleta independentemente do treino).

Com o avanço da idade os indivíduos tendem a perder densidade óssea, o que pode conduzir a um aumento da ocorrência de fracturas dos ossos, e que ocorre com mais severidade nas mulheres a partir da menopausa. Como tal, existem diversas medidas preventivas para diminuir esta perda e, conseqüentemente, a osteoporose, que incluem a dieta alimentar com preferência em determinados nutrientes como o cálcio e o magnésio. Todavia existem outros nutrientes que podem ser benéficos. Diversos estudos comprovam que em populações idosas, em especial em mulheres pós-menopausa, existe uma correlação directa entre o consumo de álcool e a preservação da densidade óssea tanto em homens como em mulheres (Lorimier, 2000; Tucker *et al.*, 2009). Existe, assim, uma diminuição na incidência de fracturas em idosos que consomem moderadamente álcool, sendo que entre outras bebidas alcoólicas, o vinho foi a que apresentou maior tendência protectora, sugerindo a participação de outros constituintes desta bebida para além do álcool (Tucker *et al.*, 2009).

2.3. Efeitos negativos do vinho e dos seus constituintes

A contrastar com todos os benefícios para a saúde atribuídos ao consumo moderado de vinho, encontram-se, igualmente, muitas evidências documentadas que referem a possibilidade do consumo de vinho poder exercer efeitos nocivos sobre a saúde. Esses efeitos podem dever-se ao consumo excessivo desta bebida, ou à possibilidade da presença de contaminantes que possam causar efeitos negativos mesmo quando esta bebida é consumida com moderação.

2.3.1. Etanol e outros álcoois

O etanol, ou álcool etílico, tem uma acção depressora sobre o sistema nervoso central, sendo este seu efeito, tal como acontece com todas as substâncias sedantes ou narcóticas, dependente da dose administrada. Em pequenas quantidades o consumo de álcool produz

sedação e distensão psíquica, que se traduzem por uma agradável sensação de bem-estar. Quantidades mais elevadas levam, numa primeira fase, à paralisação dos centros nervosos superiores com alterações da coordenação motora (ataxia) e aparecimento de comportamentos desinibidos, e, numa fase mais avançada a um efeito narcótico profundo acompanhado de perda de reflexos. Doses extremas deste composto levam à paralisação dos centros nervosos do bolbo e tronco encefálico que conduzem à impossibilidade de controlo de processos essenciais à vida como sejam a respiração e a circulação sanguínea (Lidner, 1995).

As doses associadas a todos os efeitos anteriormente descritos variam muito de pessoa para pessoa e dependem de factores como o tipo de bebida alcoólica que se consome ou a quantidade de comida existente no estômago. O álcool pode ser absorvido ao longo de todo o tracto gastrointestinal. Em jejum cerca de 20% da dose é absorvida ao nível do estômago e a restante absorvida no duodeno ou na porção superior do intestino delgado. A absorção é assim muito rápida com cerca de 90% da dose absorvida em menos de uma hora. Pelo contrário, quando o estômago não se encontra vazio a absorção processa-se mais lentamente, devido à velocidade de esvaziamento gástrico aumentar com a presença de alimentos e, portanto, o etanol demora mais tempo a chegar ao local onde é maioritariamente absorvido (duodeno e porção superior do intestino delgado). Cerca de 90% do etanol ingerido é metabolizado pelas enzimas de biotransformação, sendo o restante excretado pela urina, suor e ar exalado. Devido ao teor de álcool nos alvéolos pulmonares ser dependente do seu teor no sangue, a concentração deste compostos no ar exalado pode ser utilizada para aferir a sua concentração sanguínea (Lidner, 1995; Prates, 2012).

Quando a absorção do etanol é muito rápida a concentração que chega ao fígado via veia porta é também elevada, podendo ocorrer a saturação das vias de biotransformação e, consequentemente, o aumento da fracção deste composto que alcança a circulação sistémica (Prates, 2012).

A principal via de biotransformação do etanol envolve a acção da enzima álcool desidrogenase (ADH) e ocorre quase que integralmente no fígado. Aproximadamente 90% da biotransformação do etanol ingerido ocorre por oxidação enzimática mediante duas reacções enzimáticas sucessivas. A primeira reacção envolve a álcool desidrogenase (ADH) citosólica, responsável pela conversão de etanol a acetaldeído com consequente redução da forma oxidada da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+) à sua forma reduzida (NADH). O acetaldeído pode ser posteriormente oxidado a ácido acético pela aldeído desidrogenase (ALDH) mitocondrial, igualmente com redução do NAD^+ (Coleman, 2010). O acetato produzido entra então no Ciclo de Krebs onde é oxidado em dióxido de carbono e água. Desta forma, o etanol constitui uma fonte de energia gerando cerca de 7 kcal por cada grama desta substância que é metabolizada (Almeida & Afonso, 1997).

A oxidação do etanol a acetaldeído pode igualmente ser mediada pelo citocromo P450 2E1 (CYP2E1), existente no retículo endoplasmático liso, ou pela catalase, ocorrendo esta reacção nos peroxissomas (Figura 2.5) (Parkinson, 1996).

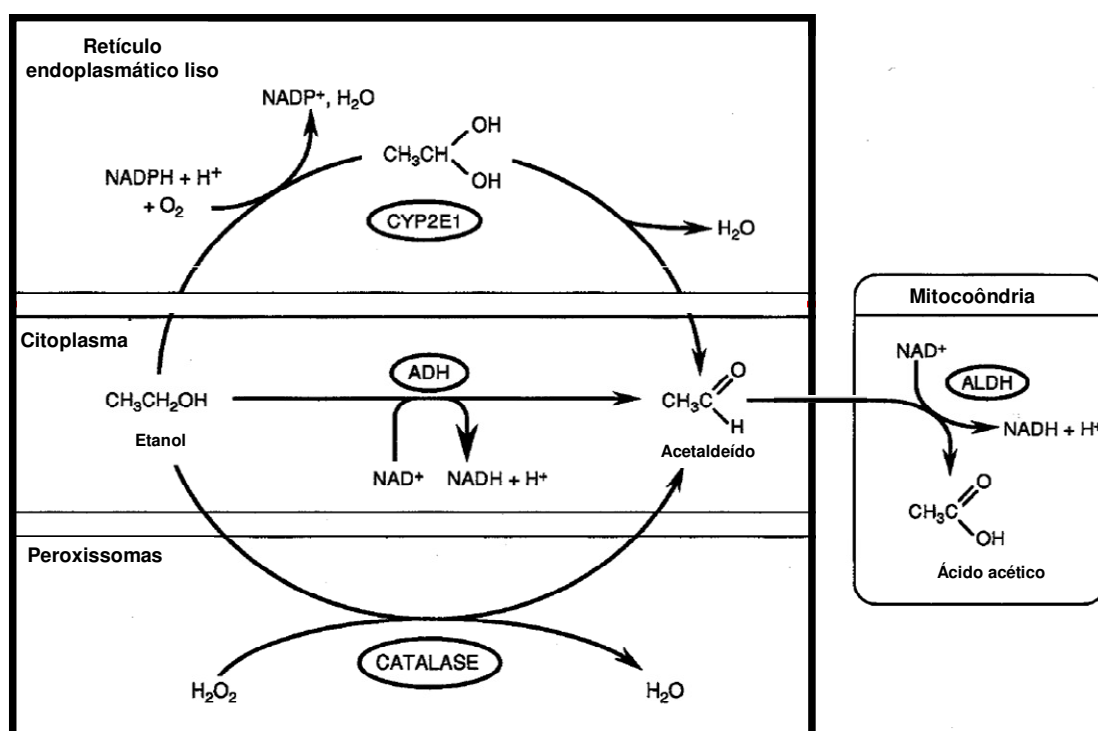


Figura 2.5 - Vias de biotransformação do etanol a acetaldeído (adaptado de Parkinson, 1996).

As diferenças interindividuais na expressão e actividade das enzimas envolvidas na metabolização do etanol contribuem para as diferenças de sensibilidade a este composto que se verificam entre indivíduos. Em particular, o facto da ADH gástrica das mulheres ser menos eficiente do que a dos homens constitui um dos factores envolvidos na maior vulnerabilidade do sexo feminino aos efeitos do álcool (Coleman, 2010).

Dentro das doenças mais associadas com consumo abusivo de álcool são as doenças hepáticas como a cirrose e o cancro. Com efeito, existe uma forte associação entre a incidência de cancro do tracto digestivo superior (cavidade oral, faringe, esófago e laringe) ou entre a incidência de doenças hepáticas e o consumo de álcool, sendo este risco agravado nos indivíduos susceptíveis, tais como os que possuem outras doenças hepáticas, em que este risco aumenta significativamente mesmo quando o álcool é consumido em quantidades moderadas (Andrade & Oliveira, 2009).

O etanol leva a alterações no metabolismo, muito particularmente no metabolismo dos lípidos, que originam a deposição de gordura no fígado, ou seja a esteatose alcoólica, que pode estar na base do aparecimento de hepatites e de cirrose hepática, que aumenta a propensão para o aparecimento do hepatocarcinoma (Lidner, 1995).

Para além das lesões no sistema digestivo, o consumo excessivo de álcool está ainda associado a diversas patologias. Assim, este consumo constitui um factor de risco para a aterosclerose e consequentes doenças cardiovasculares, reduz a eficiência do sistema

imunitário, provoca lesões no sistema nervoso central (SNC), além de estar ainda associado a diversos tipos de cancro (Porto, 2002). Muitos destes efeitos desfavoráveis podem ser contrabalançados pelos compostos fenólicos presentes no vinho, que conferem protecção do endotélio vascular e do tracto digestivo superior (Porto, 2002, Andrade, 2006). Contudo, esta potencial acção neutralizadora apenas é válida no consumo moderado, já que o excesso provoca um desequilíbrio no metabolismo (Porto, 2002).

Muitos dos efeitos tóxicos do etanol resultam do acetaldeído ou das espécies reactivas de oxigénio que se formam no decurso da sua metabolização ou como resultado dos processos inflamatórios desencadeados por este composto (Lidner, 1995; Porto, 2002). Assim, como já anteriormente referido, as ROS podem causar lesões em diversas estruturas celulares, podendo, desta forma, contribuir para o desenvolvimento de diversas patologias que incluem o cancro, a diabetes, a hipertensão e problemas cardiovasculares (Bianchi & Antunes, 1999; Sousa, 2008; Pandey & Rizvi, 2010). O acetaldeído, tal como os demais aldeídos, pode formar aductos com as proteínas e oxidar os seus grupos sulfidril, levando à sua consequente polimerização (Porto, 2002).

O consumo prolongado de álcool está correlacionado com a senescência neuronal precoce com a consequente degenerescência do SNC, um dos principais sistemas responsáveis pelo controlo do funcionamento do organismo. Ensaio realizados com ratos adultos (Assunção, 2003) mostraram que a ingestão crónica de álcool conduz a um aumento da deposição de lipofusina, um biomarcador de envelhecimento celular, nos neurónios do SNC, relacionada provavelmente com o *stress* oxidativo. No caso de alcoolização crónica o cerebelo é uma das áreas do SNC mais vulneráveis, sendo a sua organização estrutural profundamente afectada pela acção prolongada do etanol, fornecendo o substrato morfológico às dramáticas alterações funcionais cerebelosas que se encontram no alcoolismo crónico. Também o circuito neuronal implicado nas actividades cognitivas e com um papel importante na aprendizagem e memória pode ser morfológica e funcionalmente alterado como consequência do alcoolismo crónico (Assunção, 2003).

A ingestão de álcool, em doses elevadas está associada ao desenvolvimento de hipertensão (Daluz & Coimbra, 2001; Leighton & Urquiaga, 2007), ao risco de acidente vascular cerebral hemorrágico (Lorimier, 2000), lesões na musculatura esquelética e cardíaca que podem resultar em debilidade e atrofia muscular e em insuficiência cardíaca (Lidner, 1995).

Para além dos problemas já enumerados o consumo excessivo de álcool está, igualmente, associado a problemas de desnutrição que resultam do elevado poder calórico do etanol que leva a uma diminuição do apetite. Deste facto podem resultar graves deficiências em diversos nutrientes que podem levar ao aparecimento de múltiplas patologias (Lidner, 1995).

O álcool pode ainda interferir com a absorção de nutrientes e de compostos tóxicos. Se, por um lado esta propriedade pode ser benéfica, como, por exemplo, quando facilita a absorção dos polifenóis, por outro, pode trazer consequências negativas para a saúde. Por exemplo, o etanol pode interferir com a absorção do ferro podendo conduzir a situações de hemossiderose, ou seja à acumulação anormal da hemossiderina (pigmento resultante da

degradação da hemoglobina) nos tecidos (Lidner, 1995). O etanol pode ainda interferir com o metabolismo de pré-cancerígenos ou facilitar a absorção intestinal de compostos cancerígenos contribuindo assim para o aparecimento do cancro (Jackson, 2000).

As bebidas alcoólicas, principalmente o vinho, têm demonstrado poder desencadear reacções alérgicas devido a alguns dos seus constituintes. Um deles é o etanol que pode originar uma anafilaxia, como resultado de uma resposta alérgica, geralmente mediada pelo anticorpo imunoglobulina E (IgE) (Arnold e Williams, 2011). Os sintomas mais comuns desta reacção alérgica são os dermatológicos, como a urticária, e os respiratórios como a asma. Quando se desenvolve a anafilaxia esta pode, eventualmente, conduzir à morte do indivíduo como resultado da obstrução das vias aéreas ou por colapso vascular. A deficiência genética da enzima aldeído desidrogenase, que ocorre em alguns indivíduos sendo mais comum em indivíduos asiáticos, é um dos factores de risco para o desenvolvimento da anafilaxia provocada pela ingestão de álcool. Nesta situação, a reacção resulta do acetaldeído libertado no plasma (Jackson, 2000).

Outro dos problemas associados ao consumo abusivo do álcool é a síndrome alcoólica fetal que pode surgir em crianças cujas mães consumiram álcool durante a gestação. Esta síndrome resulta da capacidade do etanol transpor a barreira placentária, e caracteriza-se pelo atraso do desenvolvimento/crescimento pré ou pós-natal, podendo vir acompanhada de microcefalia, atraso no desenvolvimento psíquico e psicomotor e malformações ao nível da face, do coração e das articulações (Lidner, 1995).

Para além do etanol, no vinho, pode encontrar-se também o metanol. Após a sua ingestão, este álcool é oxidado primeiro a formaldeído e depois a ácido fórmico, ambos compostos tóxicos para o sistema nervoso central, podendo causar cegueira, coma e morte. No entanto, com a aplicação das práticas normais de vinificação as quantidades de metanol presentes nos vinhos são apenas residuais, não se atingindo valores que possam desencadear estes efeitos de toxicidade (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998, Hipólito-Reis, 2008).

2.3.2. Compostos fenólicos

As mesmas propriedades que determinam a actividade antioxidante dos compostos fenólicos constituintes do vinho tinto podem ser responsáveis por eventuais efeitos nefastos. Dito isto, alguns polifenóis antioxidantes têm comprovado exibir uma actividade pró-oxidante *in vitro* (Porto, 2002; Behling *et al.*, 2004). Assim, em determinadas condições, como, por exemplo, na presença do óxido nítrico (NO), ou quando em doses elevadas, e em determinados tecidos, os polifenóis podem oferecer mais riscos oxidativos do que benefícios antioxidantes (Ferguson, 2001; Behling *et al.*, 2004). Com efeito, os polifenóis podem reduzir o ferro (III) a ferro (II) e, assim, gerar radicais hidroxilo através da reacção de Fenton. Os polifenóis podem ainda ser reduzidos a quinonas e entrar em ciclos redox originando a produção de ROS ou podem, no decurso da sua regeneração, gerar radicais secundários reactivos capazes de oxidar proteínas e lípidos. Os radicais hidroxilo derivados de flavonóides

semelhantes à quercetina iniciam a peroxidação de lípidos das membranas celulares e causam danos ao nível do DNA (Ferguson, 2001).

Embora alguns ensaios *in vivo*, realizados em animais de laboratório, atribuam efeitos pró-carcinogénicos a alguns flavonóides, particularmente à quercetina, a maioria destes ensaios apontam no sentido destes compostos terem uma atividade anticancerígena. É possível que as enzimas de biotransformação, particularmente as da fase II, possam desempenhar um papel importante na limitação dos efeitos mutagénicos dos polifenóis *in vivo* (Scalbert *et al.*, 2005).

Outro efeito negativo que os compostos fenólicos podem exercer no organismo reside no facto destes poderem ser potencialmente antinutricionais. Esta propriedade pode dever-se à sua capacidade de quelação de metais, como, por exemplo, o ferro, e de ligação a aminoácidos e proteínas no tracto gastrointestinal. Desta forma, o consumo elevado destes compostos pode estar, assim, relacionado com uma redução da biodisponibilidade destes nutrientes (Gomes, 2003, Cerqueira *et al.*, 2007) e consequente perda de valor biológico dos alimentos (Gonçalves, 2007).

Conforme descrito, os polifenóis podem formar complexos com os catiões metálicos, através dos seus grupos carboxílicos e hidroxilos, interferindo, deste modo, com a absorção intestinal destes (Bravo, 1998). A limitação da absorção do ferro proveniente da alimentação devida à interacção com os compostos fenólicos, nomeadamente com as procianidinas, pode desencadear repercussões graves em pessoas com deficiência de ferro no organismo (Porto, 2002), que, por esta razão, devem evitar o consumo excessivo destes compostos (Faria, 2000).

Conforme já referido, alguns polifenóis, principalmente os taninos, têm a capacidade de interagir com as proteínas, podendo, devido à diversidade estrutural de ambos, estabelecer-se diversos tipos de ligações (Gonçalves, 2007; Bravo, 1998). O maior grau de polimerização dos taninos, e, consequentemente o seu maior peso molecular, bem como a presença de ésteres de ácido gálico, são factores que contribuem para uma maior afinidade destes com as proteínas (Faria, 2000).

Devido a esta afinidade, em particular para com o aminoácido prolina, os compostos fenólicos e, em particular os taninos, podem reduzir a digestibilidade das proteínas, aumentando a excreção fecal de azoto, e especialmente de prolina, causado também pela eliminação de proteínas endógenas (Bravo, 1998; Faria, 2000). Neste caso, o decréscimo na absorção de prolina e de outros aminoácidos pode provocar o catabolismo de proteínas internas (Gonçalves, 2007). Esta possibilidade de ligação às proteínas pode igualmente conduzir a uma redução da actividade das enzimas envolvidas na digestão, o que por sua vez leva à diminuição da digestibilidade não somente das proteínas, mas também de outras macromoléculas como, por exemplo, o amido e os lípidos (Bravo, 1998; Faria, 2000, Gomes, 2003).

Os taninos e outros compostos fenólicos estão também descritos como substâncias com potencial para provocar enxaquecas, sendo estas desencadeadas com mais frequência pelo consumo de vinho tinto do que pelo consumo de vinho branco, devido à maior concentração de polifenóis apresentada pelo vinho tinto (Jackson, 2000).

2.3.3. Anidrido sulfuroso

O anidrido sulfuroso, também designado de dióxido de enxofre, é adicionado durante a produção do vinho devido às suas propriedades antioxidantes, antibacterianas e antifúngicas (Telles-Filho & Lopes, 2008). No entanto, em pessoas sensíveis aos sulfitos, assim como em cerca de 4 a 8% dos pacientes com asma este composto pode desencadear efeitos adversos. A reacção adversa mais comum é a broncoconstrição, particularmente no subgrupo dos asmáticos sensíveis aos sulfitos, geralmente com asma severa, podendo ocorrer outras manifestações como anafilaxia, urticária, rubor, hipotensão, náuseas e diarreia. Porém, em todos os indivíduos, a broncoconstrição ocorre com maior frequência após a inalação deste composto do que após a sua ingestão.

A sulfito-oxidase é uma enzima que intervém no metabolismo dos sulfitos. Assim, indivíduos que tenham uma deficiência nesta enzima não conseguem metabolizar grandes concentrações destes compostos, podendo desenvolver uma rápida reacção asmática devido ao transporte sanguíneo dos sulfitos até aos brônquios (Jackson, 2000).

Também as dores de cabeça que alguns indivíduos descrevem após o consumo de vinho branco podem estar relacionadas com a sensibilidade aos sulfitos. Estas dores de cabeça estão mais associadas com a ingestão de vinho branco devido a este tipo de vinho apresentar concentrações de dióxido de enxofre mais elevadas do que o vinho tinto (Jackson, 2000).

2.3.4. Aminas biogénicas

No vinho tinto podem encontrar-se as aminas biogénicas histamina e tiramina. Estas aminas quando presentes em concentrações muito elevadas podem estar associadas a efeitos toxicológicos (Jackson, 2000; Leitão *et al.*, 2005). Assim, o consumo de elevadas quantidades de aminas biogénicas pode provocar sintomas semelhantes a reacções alérgicas, tais como, náuseas, dificuldade respiratória, palpitações e dores de cabeça, entre outros (Shibamoto & Bjelanes, 1993; Jackson, 2000; Correia *et al.*, 2005; Leitão *et al.*, 2005; Maintz & Novak, 2007). Estas duas aminas biogénicas são vasoactivas, ou seja, podem actuar ao nível do sistema vascular causando alterações da pressão arterial (Shibamoto & Bjelanes, 1993).

As aminas biogénicas podem ser oxidadas por acção das enzimas oxidase da monoamina (MAO) ou oxidase da diamina (DAO), ou sofrer metilação por acção de N-metiltransferases, perdendo, em ambos os casos a sua actividade fisiológica (Maintz & Novak, 2007). No entanto, quando se verifica uma deficiente degradação destas aminas, devido a uma dose excessiva ou à redução da actividade das enzimas envolvidas no seu metabolismo, pode ocorrer a sua acumulação com o aparecimento dos respectivos sintomas de toxicidade (Maintz & Novak, 2007).

Os vinhos, para além de possuírem normalmente aminas biogénicas, especialmente os vinhos tintos, possuem ainda o etanol que demonstrou ser um potente inibidor da DAO podendo, por isso, suprimir a acção desta enzima e desta forma potenciar o efeito vascular das aminas biogénicas (Jackson, 2000; Maintz & Novak, 2007)

2.3.5. Metais pesados contaminantes do vinho

Dos metais presentes no vinho, os metais pesados são os que suscitam maior risco de toxicidade, embora estejam em concentrações vestigiais nesta bebida (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Catarino *et al.*, 2008). Dentro dos metais que podem surgir no vinho encontram-se o arsénio, o chumbo, o cádmio, o crómio e o mercúrio, que têm provado estar relacionados com múltiplos efeitos de toxicidade aguda e crónica, onde se incluem os efeitos cancerígenos, podendo, no entanto, esses efeitos ser dependentes da forma em que se encontram (orgânica ou inorgânica) bem como do seu estado de oxidação (Shibamoto & Bjelanes, 1993; Catarino *et al.*, 2008). O alumínio também está associado a patologias envolvidas em disfunções neurológicas, particularmente na doença de Alzheimer, e por esta razão tem sido objecto de estudos e de alguma controvérsia (Catarino *et al.*, 2008).

CONCLUSÃO

Em Portugal tem-se verificado um aumento da produção vinícola, maioritariamente de vinho tinto, existindo, actualmente, 13 regiões vitivinícolas no território nacional. Algumas das cultivares predominantes são o Alvarinho, Antão Vaz, Arinto, Fernão Pires nas cultivares brancas e Baga, Castelão, Tinta Barroca, Touriga Franca, Touriga Nacional, Trincadeira e Tinto Cão, nas tintas. A produção vinícola em Portugal tem sido excedentária e muito do vinho produzido tem sido destinado à exportação, tendo como destino maioritário Angola.

Apesar desta produção excedentária, Portugal ocupa um lugar de destaque na lista dos maiores consumidores de vinho a nível mundial. Assim, esta lista é encabeçada pelo Luxemburgo e pela França, seguidos da Itália e de Portugal.

As substâncias que constituem o vinho e lhe conferem características únicas são a água, composto maioritário, o etanol, originado na fermentação do açúcar do mosto e que é, depois da água, o composto mais abundante no vinho, os ácidos orgânicos, as substâncias voláteis, os glúcidos, as matérias minerais, sendo as mais representativas o potássio, o cálcio, o ferro, o cobre, o magnésio e o manganésio, as substâncias azotadas, as vitaminas e os compostos fenólicos. A composição exacta de cada vinho depende da origem da uva, dos factores climáticos e do solo, das práticas agrícolas aplicadas e dos processos de vinificação seguidos.

Em 1992 o vinho teve uma posição de destaque, após um longo estudo epidemiológico que abrangeu diversos países, realizado por Renaud e Lorgeril e definido como “Paradoxo Francês”. Este estudo demonstrou, que embora a população nalguns países consumisse uma elevada quantidade de gorduras saturadas, esta apresentava um menor índice de ocorrência de doenças cardiovasculares. Porém esta observação não foi totalmente aceite pela comunidade científica, e, por isso, conduziu à realização de inúmeros estudos no mundo inteiro para tentar comprovar que o vinho, desde que ingerido em quantidade moderada, possa ter efeitos benéficos em diversas patologias.

A qualidade do vinho e a quantidade ingerida são relevantes neste âmbito, existindo pequenas variações na concentração das diversas substâncias presentes em cada casta e, consequentemente em cada tipo de vinho, sendo o vinho mais indicado o que provém da uva *Vitis vinífera*. Quanto ao padrão de consumo, a dose recomendada não está definida pois diversos factores fisiológicos e alimentares são determinantes na absorção de álcool, no entanto está estabelecido pela OMS uma directriz de consumo, em que para os homens é de 30 g de álcool por dia (duas doses) e para as mulheres é de 15 g de álcool (uma dose), equivalendo cada dose a 150 mL de vinho.

Muitos dos efeitos positivos do vinho na saúde têm sido associados à sua elevada actividade antioxidante, a qual parece resultar da presença dos compostos fenólicos que neutralizam as espécies reactivas de oxigénio e são quelantes de iões pró-oxidantes, estando presentes em maiores quantidades no vinho tinto. Estes compostos apresentam, similarmemente,

uma acção anti-inflamatória desencadeada pela inibição das enzimas associadas aos processos inflamatórios.

Em consequência destas propriedades, o vinho reduz a incidência de diversas patologias, principalmente as doenças cardiovasculares e alguns tipos de cancro. A sua actividade cardioprotectora resulta, fundamentalmente, do decréscimo da oxidação das proteínas LDL e da protecção da aterosclerose resultante da redução da formação das placas de ateroma e do aumento dos níveis do óxido nítrico, composto que tem um efeito vasodilatador, melhorando assim a função endotelial.

O vinho apresenta igualmente propriedades antimicrobianas contra múltiplos microrganismos nocivos, demonstrando a capacidade de inibir o desenvolvimento da bactéria *Helicobacter pylori*, limitando o aparecimento de úlceras e de outras lesões gástricas que podem desencadear processos inflamatórios e que acabam por degenerar no aparecimento de tumores gástricos. Para além da sua acção de inibição de microrganismos patogénicos, o vinho, mostrou conseguir promover o crescimento de bactérias próbióticas.

Outros dos importantes efeitos positivos sobre a saúde que têm vindo a ser atribuídos ao vinho são os seus efeitos neuroprotectores, nomeadamente de protecção contra o aparecimento de doenças degenerativas como o Alzheimer, sendo também apontado como um potencial promotor da função cognitiva. O consumo moderado de vinho tem, igualmente, sido associado ao aparecimento de efeitos benéficos no funcionamento renal, na diabetes mellitus, na melhoria da densidade mineral óssea nos homens e mulheres em pós-menopausa, apresentando ainda efeitos hipocolesterémicos e anti-obesidade. Recentemente também foi demonstrado que o resveratrol, um dos polifenóis presentes no vinho, pode melhorar a resistência e o metabolismo energético em ratos durante o exercício físico progressivo.

Contudo a função desempenhada por cada constituinte do vinho individualmente ainda não é conclusiva, recaindo os estudos nalguns que parecem mais efectivos nos benefícios para a saúde. Um dos compostos mais referidos é o resveratrol, que tem sido foco de múltiplos estudos, principalmente desde a sua detecção no vinho, por ser um composto biologicamente activo. A maioria das propriedades benéficas descritas para o vinho tem sido atribuída ao resveratrol, devido a este composto ser um poderoso antioxidante, mas também a outros compostos, nomeadamente a quercetina, as catequinas e antocianinas. O etanol também tem sido associado a efeitos benéficos, sendo responsável por efeitos anti-inflamatórios que contribuem para a diminuição dos processos de coagulação sanguínea, reduzindo os riscos cardiovasculares.

Embora o vinho ofereça diversas propriedades benéficas, por ser uma bebida alcoólica também apresenta efeitos negativos, e o consumo excessivo e crónico de etanol desencadeia muitos problemas de saúde. Quando consumido em quantidades moderadas, a protecção conferida pelos polifenóis presentes no vinho parece ser capaz de neutralizar os efeitos nocivos desencadeados pelo álcool. Porém, deve salientar-se que esta acção neutralizadora é somente válida numa situação de consumo moderado, pois o excesso provoca um desequilíbrio no metabolismo.

A ingestão excessiva de etanol desencadeia então diversas patologias nomeadamente doenças cardiovasculares, lesões no sistema nervoso e alguns tipos de cancro, estando igualmente associadas reacções alérgicas provocadas, como a anafilaxia. Os próprios polifenóis podem, em algumas situações, apresentar propriedades pró-oxidantes e originar o aparecimento de espécies reactivas de oxigénio capazes de causar efeitos deletérios sobre a saúde. Os polifenóis podem ainda apresentar um outro efeito negativo que resulta da sua potencial acção antinutricional, resultante da sua capacidade de se ligar e, desta forma, impedir a absorção, de diversos constituintes da dieta com consequente perda de nutrientes como os aminoácidos e o ferro. Quando se ligam às enzimas digestivas, os polifenóis podem reduzir a sua actividade impedindo a correcta digestão e absorção dos nutrientes da dieta.

Também outros compostos presentes no vinho podem ter efeitos nocivos sobre a saúde. Dentro destes encontramos os metais que podem surgir nesta bebida devido à sua contaminação. Com efeito, os metais pesados constituem uma problemática na composição dos vinhos pois têm efeitos nefastos graves na saúde, embora o nível de ocorrência seja normalmente inferior aos limites estabelecidos pela OIV. O anidrido sulfuroso, apesar de não ser um constituinte natural do vinho, é um aditivo fundamental para assegurar as suas boas condições de elaboração e conservação. Todavia, este composto pode desencadear reacções alérgicas em pessoas sensíveis aos sulfitos sendo a broncoconstrição o sintoma mais comum. Também as aminas biogénicas que se formam essencialmente durante a fermentação podem, desde que em concentrações elevadas representar um risco para a saúde. A histamina e a tiramina presentes na maioria dos vinhos estão associadas a efeitos toxicológicos, desencadeando sintomas como náuseas, dificuldade respiratória e dores de cabeça.

A manutenção *in vivo* das propriedades biológicas apresentadas pelos compostos fenólicos em ensaios *in vitro* está dependente da sua biodisponibilidade. Após a ingestão, estes compostos seguem para o intestino mas somente os compostos mais simples ou aqueles que conseguem utilizar mecanismos de absorção específicos aí existentes conseguem ser absorvidos. Na maioria dos compostos fenólicos que se encontram ligados a açúcares é necessária a remoção desta molécula, mediada pelas β -glicosidases da microflora intestinal. Também para as moléculas com peso molecular elevado, como é o caso dos taninos, têm de ser degradadas pela flora intestinal originando, assim, moléculas de menor peso molecular que possam ser absorvidas na mucosa do cólon, caso contrário, estes não são absorvidos e são excretados pelas fezes.

Outro factor que pode condicionar a funcionalidade dos polifenóis *in vivo* é a sua biotransformação. O fígado é o principal órgão de metabolização dos compostos fenólicos, podendo estes sofrer metilação, glucoronidação e/ou sulfatação, originando metabolitos que podem ser excretados pela bília ou pela urina. Na primeira via de excreção estas substâncias podem ser posteriormente hidrolisadas e reabsorvidas no intestino, enquanto que na segunda são excretadas para o exterior do organismo. A biotransformação altera assim o tempo de permanência dos compostos fenólicos activos dentro do organismo e, desta forma, o tempo em que estes estão disponíveis para exercer os seus efeitos biológicos.

Diante do exposto nesta revisão bibliográfica, o vinho, que está associado à história do Homem, pode ser considerado um alimento funcional, apresentando propriedades benéficas para a saúde de quem o ingere, devido, sobretudo, à sua composição fenólica. No entanto deve salientar-se, que estes efeitos benéficos só resultam do consumo moderado, regular e durante as refeições desta bebida, caso contrário, o consumo de vinho pode ter um impacto bastante nocivo na saúde dos seus consumidores.

Embora subsistam muitas dúvidas e contrariedades, a maioria dos trabalhos e estudos que se encontram na literatura, sugerem que os efeitos positivos na saúde associados ao consumo moderado de vinho, em particular do vinho tinto, resultem da acção protectora dos compostos fenólicos existentes nesta bebida. Contudo, esta questão não está totalmente esclarecida, em grande parte devido ainda a alguma falta de conhecimento no que concerne à garantia de que *in vivo* os polifenóis podem desempenhar as mesmas funções protectoras que exercem *in vitro*. Dada a importância desta matéria, muitos trabalhos estão a ser realizados para obter informações mais consistentes, uniformes e credíveis quer sobre a biodisponibilidade, quer sobre a biotransformação dos compostos fenólicos presentes no vinho, de modo a dar mais suporte à hipótese do envolvimento dos compostos fenólicos nas propriedades funcionais desta bebida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida MDV & Afonso CIPN (1997) Princípios básicos de alimentação e nutrição. Universidade Aberta, Lisboa, Portugal, 267 p.

Andrade ACM. (2006) Ação do vinho tinto sobre o sistema nervoso simpático e função endotelial em pacientes hipertensos e hipercolesterolêmicos. Dissertação de Doutorado em Ciências (Cardiologia). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 114 p.

Andrade AG & Oliveira LG (2009) Principais consequências em longo prazo relacionadas ao consumo moderado de álcool. *in* Andrade AG, Anthony JC & Silveira CM (Eds) *Álcool e as suas consequências: uma abordagem multiconceitual*. Editora Manole Ltda. - Tamboré, Brasil, p. 37-67.

Araújo PWB, Júnior LJQ, Vasconcelos HD & Almeida JRGS (2005) Flavonóides e Hipertensão. *Revista Brasileira de Hipertensão*, **12(3)**, p. 188-189.

Arnold JJ & Williams PM (2011) Anaphylaxis: Recognition and management. *American Family Physician*, **84(10)**, p. 1111-1118.

Assunção MMB (2003) Compostos polifenólicos do vinho e formação de lipofuscina no cérebro do rato – Estudo morfológico. Dissertação de Licenciatura em Ciências da Nutrição. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, 79 p.

Azevedo CM (2007) Efeito protector da antocianinas na oxidação das LDL humanas; relação estrutura-actividade. Dissertação de Mestrado em Tecnologias do Medicamento. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 96 p.

Barros MSGQ (2010) Estudo sobre a consumidora portuguesa de vinhos: o impacto das crenças na sua opção de beber vinho. Projecto de Mestrado em Marketing. ISCTE Business School, Instituto Universitário de Lisboa, 78 p.

Batlouni M (2001) Endotélio e hipertensão arterial. *Revista Brasileira de Hipertensão*, **8**, p. 328-338.

Behling EB, Sendão MC, Francescato HDC, Antunes LMG & Bianchi MLP (2004) Flavonóide Quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas. *Alimentos e Nutrição*, **15(3)**, p. 285-292.

Bianchi MLP & Antunes LMG (1999) Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista Nutricional*, **12(2)**, p. 123-130.

Blanco-Colio LM, Valderrama M, Alvarez-Sala LA, Bustos C, Ortego M, Hernández-Presa MA, Cancelas P, Gómez-Gerique J, Millán J & Egido J (2000) Red wine intake prevents nuclear factor- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells of healthy volunteers during postprandial lipemia. *American Heart Association*, **102**, p. 1020-1026.

Boban N, Tonkic M, Budimir D, Modun D, Sutlovic D, Punda-Polic V & Boban M (2010) Antimicrobial effects of wine: Separating the role of polyphenols, pH, ethanol, and other wine components. *Journal of Food Science*, **75(5)**, p. M322-M326.

Bravo L (1998) Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, **56(11)**, p. 317-333.

Brito PM (2007) Papel do resveratrol no contexto da prevenção da aterosclerose: mecanismos moleculares envolvidos na apoptose e proliferação celular. Dissertação de doutoramento em Farmácia (Bioquímica). Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 181 p.

Cabrita MJ, Ricardo-da-Silva J & Laureano O (2003) Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. Livro de actas do I Seminário Internacional de Vitivinicultura, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa p. 61-102.

Cataneo CB, Caliari V, Gonzaga LV, Kuskoski EM & Fett R (2008) Actividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. *Ciências Agrárias*, **29(1)**, p. 93-102.

Catarino S, Curvelo-Garcia AS & Sousa RB (2008) Revisão: Elementos contaminantes nos vinhos. *Ciência Técnica Vitivinícola*, **23(1)**, p. 3-19.

Catarino SCG (2006) Metais contaminantes nos vinhos. Ocorrência por influência das bentonites. Tese de Doutoramento em Engenharia Agro-Industrial. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, 160 p.

Cerqueira FM, Medeiros MHG & Augusto O (2007) Antioxidantes dietéticos: Controvérsias e perspectivas. *Química Nova*, **30(2)**, p. 441-449.

Clarke RJ & Bakker J (2004) Wine flavour chemistry. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, Reino Unido, 339 p.

Coleman MD (2010) Human drug metabolism an introduction. 2ª Edição. Jonh Wiley & Sons, Ltd. Oxford, Reino Unido 346 p.

Correia DM, Barros L, Verdial J, Peres AM & Dias L (2005) Segurança Alimentar em vinhos: detecção de aminas biogénicas. Livro de actas do 1º Congresso de Saúde de Bragança: Na rota da promoção da saúde, 29-30 de Abril de 2005, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal, p.86-88.

Daluz PL & Coimbra SR (2001) Alcohol and Atherosclerosis. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **73(1)**, p. 51-55.

Dias CAF (2011) Avaliação de taninos condensados, antocianinas e precursores de aroma ao longo da maturação em castas tintas: Efeito da altitude da vinha. Dissertação de Mestrado em Viticultura e Enologia. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, 75p.

Dolinsky VW, Jones KE, Sidhu RS, Haykowsky M, Czubyrt MP, Gordon T & Dyck JRB (2012) Improvements in skeletal muscle strength and cardiac function induced by resveratrol during training contribute to enhanced exercise performance in rats. *The Journal of Physiology*, **590(11)**, p. 2783-2799.

Duarte MPAC (2008) Desenvolvimento de novos sistemas de *Escherichia coli* competentes em biotransformação humana: Aplicação no estudo do metabolismo de xenobióticos mediado pelos citocromos P450. Dissertação de Doutoramento em Ciências do Ambiente. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, 246 p.

Ebeler SE, Brenneman CA, Kim G, Jewell WT, Webb MR, Chacon-Rodriguez L, MacDonald EA, Cramer AC, Levi A, Ebeler JD, Islas-Trejo A, Kraus A, Hinrichs SH & Clifford AJ (2002) Dietary catechin delays tumor onset in a transgenic mouse model. *American Journal of Clinical Nutrition*, **76**, p. 865-872.

Faria MESPO (2000) Proantocianidinas do vinho. Dissertação de Licenciatura em Ciências da Nutrição. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, 37 p.

Ferguson LR (2001) Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research*, **475**, p. 89-111.

Fernández-Mar MI, Mateos R, García-Parrilla MC & Cantos-Villar E (2012) Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. *Food Chemistry*, **130**, p. 797-813.

Fernández-Pachón MS, Villaño D, Troncoso AM & García-Parrilla MC (2006) Determination of the phenolic composition of sherry and table white wines by liquid chromatography and their relation with antioxidant activity. *Analytica Chimica Acta*, **563**, p. 101-108.

Ferreira ICFR & Abreu R (2007) Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. *Bioanalise*, **IV(2)**, p. 32–39.

Gomes DCL (2003) Os Fitonutrientes: Revisão Bibliográfica. Dissertação de Licenciatura em Ciências da Nutrição. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, p. 65.

Gomes SMC (2010) Determinação de antioxidantes por cromatografia líquida de alta pressão com detecção electroquímica. Dissertação de Mestrado em Química. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 61 p.

Gonçalves RMF (2007) Estudo da inibição de tripsina por compostos fenólicos isolados de fontes naturais. Efeito antinutricional de bebidas comuns. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ciência e Segurança Alimentar. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 112 p.

Guerra CC (2003) Influência de parâmetros enológicos da maceração na vinificação em tinto sobre a evolução da cor e a qualidade do vinho. Livro de actas do X Congresso de Viticultura e Enologia, 3 a 5 de Dezembro, Bento Gonçalves, Brasil, p. 15-18.

Hipólito-Reis C (2008) Vinho, gastronomia e saúde. 1ª Edição, Editora da Universidade do Porto, Porto, Portugal, 460 p.

Horst M.A & Lajolo FM (2007) Biodisponibilidade de compostos bioactivos de alimentos. *in*: Cozzolino SMF (Eds.) *Biodisponibilidade de Nutrientes*, (volume 1), 2ª Edição, Manole, São Paulo, Brasil, p. 697-731.

IVV (Instituto da Vinha e do Vinho) (2012), Vinhos e Aguardentes de Portugal - Anuário 2010/11”, disponível em <http://www.ivi.min-agricultura.pt/np4/1736.html>, acedido em Agosto de 2012.

Jackson RS (2000) Wine science – Principles, practice, perception. 2ª Edição, Academic Press, San Diego, Califórnia, EUA, 649p.

Jimenez M, Chiuve SE, Glynn RJ, Stampfer MJ, Camargo CA, Willet WC, Manson J.E & Rexrode KM (2012) Alcohol consumption and risk of stroke in women. *American Heart Association*, **43**, p. 939-945.

Jordão A (2000) Estrutura e composição das proantocianidinas da uva; Evolução ao longo da maturação. *Miilllenium*, **19**, p. 1-21.

Kallithraka S, Salacha MI & Tzourou I (2009) Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, **113**, p. 500-505.

Katalanić V, Milos M, Modun D, Musić I & Boban M (2004) Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry*, **86**, p. 593-600.

Kohlmeier M (2003) Nutrient metabolism. Academic Press, San Diego, California, EUA, 829 p.

Kummer CL & Coelho TCRB (2002) Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos atuais. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, **52(4)**, p. 498-512.

Lei nº8/85 (1985) Quadro das Regiões Demarcadas Vitivinícolas. *Diário da República. 1ª série-A*, **128**, de 4 de Junho, p. 1510-1512.

Leighton F & Urquiaga I (2007) Changes in cardiovascular risk factors associated with wine consumption in intervention studies in humans. *Annals of Epidemiology*, **17(5)**, p. S32-S36.

Leitão MC, Marques AP & Romão MVS (2005) A survey of biogenic amines in commercial Portuguese wines. *Food Control*, **16**, p. 199–204.

Leite TT (2009) Tratamentos pós-colheita em uvas e seus efeitos nos vinhos das variedades Chardonnay e Cabernet Sauvignon. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, 65 p.

Lindner E (1995) Toxicología de los alimentos. 2ª Edição. Editorial Acribia, Saragoça, Espanha, 262 p.

Lippi G, Franchini M, Favaloro EJ & Targher G (2010) Moderate red wine consumption and cardiovascular disease risk: beyond the "French paradox". *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, **36(1)**, p. 59-70.

Lorimier AA (2000) Alcohol, wine, and health. *The American Journal of Surgery*, **180**, p.357-361.

Maintz L & Novak N (2007) Histamine and histamine intolerance. *American Journal of Clinical Nutrition*, **85**, p. 1185–1196.

Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A & Rémésy C (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **81(suppl)**, p. 230S-242S.

Mansur AP (1999) Comportamento da função endotelial em hipertensos coronariopatas. *HiperAtivo*, **6(1)**, p. 23-25.

Martín S, González-Burgos E, Carretero ME & Gómez-Serranillos MP (2011) Neuroprotective properties of spanish red wine and its isolated polyphenols on astrocytes. *Food Chemistry*, **128(1)**, p. 40-48.

Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM & Tuñón MJ (2002) Revisión Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, **6**, p. 271–278.

Mateus N (2009) A química dos sabores do vinho – os polifenóis. *Revista Real Academia Galega de Ciências*, **XXVIII**, p. 5-22.

Matić I, Zizak Z, Simonović M, Simonović B, Godevac D, Savikin K & Juranić Z (2010) Cytotoxic effect of wine polyphenolic extracts and resveratrol against human carcinoma cells and normal peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Medicinal Food*, **13(4)**, p. 851-862.

McDougall GJ, Fyffe S, Dobson P & Stewart D (2005) Anthocyanins from red wine – Their stability under simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry*, **66**, p. 2540-2548.

Migliore L & Coppedè F (2009) Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutation Research*, **674**, p. 73–84.

Monteiro MRB (2002) Captação de catiões orgânicos em células Caco-2: Efeitos do vinho e do chá. Dissertação de Licenciatura em Ciências da Nutrição. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto 49 p.

Moraes V & Locatelli C (2010) Vinho: uma revisão sobre a composição química e benefícios à saúde. *Evidência*, **10(1-2)**, p. 57-68.

Mota RV, Amorim DA, Fávero AC, Gloria MBA & Regina MA (2009) Caracterização físico-química e aminas bioactivas da cv. Syrah – Efeito do ciclo de produção. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **29(2)**, p. 380-385.

Mudnic I, Modun D, Rastija V, Vukovic J, Brizic I, Katalinic V, Kozina B, Medic-Saric M & Boban M (2010) Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. *Food Chemistry*, **119**, p. 1205-1210.

Nascimento APR (2011) Quantificação dos taninos dos vinhos por Transformada de Fourier dos espectros no infravermelho médio (FTIR). Dissertação de Mestrado em Viticultura e Enologia. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, 70 p.

Neto JAS & Cosenza RM (1994) Efeitos do vinho no sistema cardiovascular. *Revista Médica de Minas Gerais*, **4(3)**, p. 27-32.

Nicoletti A, Mostile G, Cappellani R, Conytafatto D, Arabia G, Lamberti P, Marconi R, Morgante L, Barone P, Quattrone A & Zappia M (2011) Wine drinking and essential tremor: a possible protective role. *Movement Disorders*, **26(7)**, p. 1310-1315.

Nunes C, Cunha A, Maricato E, Silva JAL, Mendo S, Rodrigues A, Amado O & Coimbra MA (2012) Utilização de uma película de quitosana na produção de vinhos brancos. *Enovitis*, **28**, p. 36-39.

Pandey KB & Rizvi SI (2010) Resveratrol may protect plasma proteins from oxidation under conditions of oxidative stress *in vitro*. *Journal of Brazilian Chemical Society*, **21(5)**, p. 909-913.

Panigas IF (1994) Manual sobre vinhos – Da história ao serviço. *Revista Médica de Minas Gerais*, **4(3)**, p. 27-32.

Parkinson A (1996) Biotransformation of xenobiotics. *in*: Klaassen CD, Amdur MO & Doull J (Eds.) *Casarett & Doull's Toxicology: The basic science of poisons*. 5ª Edição, McGraw-Hill Companies, New-York, EUA, p. 113-186.

Paulo L, Oleastro M, Gallardo E, Queiroz JA & Domingues F (2011) Anti-*Helicobacter pylori* and urease inhibitory activities of resveratrol and red wine. *Food Research International*, **44(4)**, p. 964-969.

Penna NG & Hecktheuer LHR (2004) Vinho e Saúde: uma revisão. *Infarma*, **16(1-2)**, p. 64–67.

Perez SB (2000) Monografia VI – Alimentos y Salud. Edição da Real Academia de Farmácia, Madrid, Espanha, 476 p.

Peynaud E (1993) Conhecer e trabalhar o vinho, Litexa Editora, Lda, Lisboa, Portugal, 352 p.

Porto PALS (2002) Estudo da Actividade Antioxidante de Catequinas e Procianidinas Oligoméricas. Dissertação de Mestrado em Química, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 151 p.

Prates AM (2012) Alcoolemia e etanol no ar exalado: Validação de uma metodologia rápida e sua aplicação em um grupo populacional exposto a doses controladas. Dissertação de Mestrado em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente. Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, Brasil, 69 p.

Presti RL, Carollo C & Caimi G (2007) Wine consumption and renal diseases: new perspectives. *Nutrition*, **23(7-8)**, p. 598-602.

Queipo-Ortuño MI, Boto-Ordóñez M, Murri M, Gomez-Zumaquero JM, Clemente-Postigo M, Estruch R, Diaz FC, Andrés-Lacueva C & Tinahones F (2012) Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers. *American Journal of Clinical Nutrition*, **95**, p. 1323-1334.

Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK & Kumar MNVR (2006) Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, **113(3)**, p. 189-207.

Ribeiro AIPM (2009) Efeito do consumo de vinho tinto na síndrome metabólica – análise transversal de dados do PREDIMED. Dissertação de Licenciatura em Ciências da Nutrição. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, 42 p.

Ribèreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A & Dubourdieu D (1998) *Traité d'oenologie: Tome 2, Chimie du vin, Stabilisation et traitement*. Dunod, Paris, França.

Rocha AH & Guerra BN (2008) Polifenóis em vinhos tintos: factores envolvidos, propriedades funcionais e biodisponibilidade. *Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha*, **9(2)**, p. 93-105.

Rodrigo R & Rivera G (2002) Renal damage mediated by oxidative stress: A hypothesis of protective effects of red wine. *Free Radical Biology & Medicine*, **33(3)**, p. 409–422.

Rodrigues JA (2011) Determinação da actividade antioxidante e composição fenólica de vinhos portugueses e correlação com parâmetros de cor. Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, 161 p.

Ruitenbergh A, van Swieten JC, Witteman JCM, Mehta KM, van Duijn CM, Hofman A & Breteler MMB (2002) Alcohol consumption and risk of dementia: the Rotterdam Study. *Lancet*, **359**, p. 281–286.

Sanza M, Simón BF, Esteruelas E, Muñoz AM, Cadahía E, Hernández MT, Estrella I & Martínez J, (2012) Polyphenols in red wine aged in acacia (*Robinia pseudoacacia*) and oak wood barrels *Analytica Chimica Acta*, **732**, p. 83–90.

Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C e Jimenez L (2005) Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **45(4)**, p. 287–306.

Schmatz R (2009) Efeito do resveratrol nos sistemas colinérgico e purinérgico em encéfalo de ratos diabéticos. Dissertação de Mestrado em Toxicologia Bioquímica. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil, 103 p.

Serra R, Araújo I, Venâncio A & Oliveira J (2004) Venenos e panaceias do vinho tinto. Actas do 6º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo, 26-28 Maio, Évora, Portugal, p. 1-8.

Shibamoto T & Bjeldanes LF (1993) Introduction to Food Toxicology. Academic Press Inc., San Diego, EUA, 213 p.

Shrikhande AJ (1999) Wine by-products with health benefits. *Food Research International*, **33**, p. 469-474.

Silva J & Salvini DV (2009) Efeitos da vinhoterapia em parâmetros sanguíneos (colesterol, glicose e triglicéridos). *Visão Académica*, **10(1)**, p. 54-67.

Silva JMR (2006) Composição da uva, do mosto e do vinho. 100º Curso Intensivo de Vinificação, 4 a 8 de Setembro de 2006, Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 75 p.

Silva WT, Santos JG, Watanabe M & Vattimo MFF (2011) Efeito renoprotector dos flavonóides do vinho na nefrotoxicidade do imunossupressor tacrolimus. *Acta Paulista de Enfermagem*, **24(3)**, p. 388-392.

Simoncini T, Lenzi E, Zöchling A, Gopal S, Goglia L, Russo E, Polak K, Casarosa E, Jungbauer, Genazzani AD & Genazzani AR (2011). Estrogen-like effects of wine extracts on nitric oxide synthesis in human endothelial cells. *Maturitas*, **70(2)**, p. 169-175.

Sousa JBASP (2008) Actividade Biológica de derivados do Ácido Cafeico: Efeito antioxidante e anti-inflamatório. Dissertação de Mestrado em Controlo de Qualidade. Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 78 p.

Souza GG, Meneghin LO, Coelho SP, Maia JF & Silva AG (2006) A uva roxa, *Vitis vinífera* L. (Vitaceae) – seus sucos e vinhos na prevenção de doenças cardiovasculares. *Natureza on line*, **4(2)**, p. 80-86.

Spranger I & Sun B (2009) Vinho, uma bebida funcional. *Enovitis*, **17**, p. 46-47.

Telles-Filho PA & Lopes AJ (2008) Asma por sulfitos. *Pulmão*, **1**, p. 45-50.

Tian L, Wang H, Abdallah AM, Prinyawiwatkul W & Xu Z (2011) Red and white wines inhibit cholesterol oxidation induced by free radicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, p. 6453-6458.

Tucker KL, Jugdaohsingh R, Powell JJ, Qiao N, Hannan MT, Sripanyakor S, Cupples LA & Kiel DP (2009) Effects of beer, wine and liquor intakes on bone mineral density in older men and women. *American Journal of Clinical Nutrition*, **89**, p. 1188-1196.

Valduga V (2008) O processo de desenvolvimento do enoturismo no vale dos vinhedos. Livro de actas do V Seminário da Associação nacional de Pesquisa e Pós-Graduação em Turismo, 25-26 de Agosto, Belo Horizonte, Brasil p. 1-14.

Veloso MM, Almandanim MC, Baleiras-Couto M, Pereira HS, Carneiro LC, Fevereiro P & Eiras-Dias, J (2010) Base de dados de microsatélites das castas (*Vitis vinífera* L.) utilizadas na produção de vinho em Portugal. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **25(2)**, p. 53-61.

Vitaglione P, Sforza S, Galaverna G, Ghidini C, Caporaso N, Vescovi PP, Fogliano V & Marchelli R (2005) Bioavailability of *trans*-resveratrol from red wine in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, **49**, p. 495-504.

Vrček IV, Bojić M, Züntar I, Mendaš G & Medić-Šaric M (2011) Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines, deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chemistry*, **124**, p. 354-361.

Zhu L, Zhang Y & Jiang L (2012) Phenolic contents and compositions in skins of red wine grape cultivars among various genetic backgrounds and originations. *International Journal of Molecular Sciences*, **13**, p. 3492-3510.

Portais da Internet consultados:

[http/http://www.wineinmoderation.eu/](http://http://www.wineinmoderation.eu/), acedido em Agosto de 2012.

<http://www.infovini.com>, acedido em Agosto de 2012.

<http://www.ivv.min-agricultura.pt>, acedido em Agosto de 2012.